



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE - CCS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA COMUNICAÇÃO HUMANA -
PPGSCH

NILIAN CERQUEIRA AZEVÊDO

**EFEITOS DA TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO
MASTIGATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE**

Recife
2023

NILIAN CERQUEIRA AZEVÊDO

**EFEITOS DA TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO
MASTIGATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Comunicação Humana do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Saúde da Comunicação Humana.

Área de concentração: Fonoaudiologia.

Orientador: Prof.(a) Dr.(a): Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff

Co-orientador: Prof. (a) Dr.(a): Prof. Dr. Hilton Justino da Silva

Recife

2023

Catálogo na fonte:
Bibliotecário: Aécio Oberdam, CRB4: 1895

A994e Azevêdo, Nilian Cerqueira.
Efeitos da terapia de fotobiomodulação sobre o desempenho mastigatório em modelo experimental de obesidade / Nilian Cerqueira Azevêdo – 2023.
96 p.

Orientadora: Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff
Coorientador: Hilton Justino da Silva
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Saúde da Comunicação Humana. Recife, 2023.

Inclui referências e anexos.

1. Supernutrição. 2. Obesidade. 3. Músculo Masseter. 4. Terapia de fotobiomodulação. 5. Mastigação. Althoff, Kelli Nogueira Ferraz Pereira (orientadora). II. Título.

616.855 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS 2023 - 243)

NILIAN CERQUEIRA AZEVÊDO

**EFEITOS DA TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO SOBRE O DESEMPENHO
MASTIGATÓRIO EM MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde da Comunicação Humana do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Saúde da Comunicação Humana.

Área de concentração: Fonoaudiologia.

Aprovado em 30 de junho de 2023.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr^a. Daniele Andrade da Cunha (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr^a. Raquel da Silva Aragao (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr^a Erissandra Gomes (Examinador Externo)
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

AGRADECIMENTOS

Deleita-te também no Senhor, e ele te concederá o que deseja o teu coração. (Salmos 37:4)

Meu agradecimento inicial será sempre a Ele! Hoje, ao olhar para trás, sei que se não fosse por Ele, nada disso seria possível!

Agradeço a minha família: Rejane, Talvanes e Priscila, por todas orações, torcidas, palavras de incentivo e apoio em tudo que me proponho a fazer. Eles são o meu ponto de apoio sempre! Em toda e qualquer situação.

Ao meu namorado Leonardo, por todo apoio e disponibilidade de me acompanhar em várias idas e vindas a Recife. Pela paciência e acalento, quando tudo parecia não se encaixar. Obrigada por todo companheirismo e paciência infinita.

Aos meus companheiros de mestrado Tuany e Mateus pelo compartilhar durante esses dois anos: sejam em forma de alegria, dúvidas e “perrengues”. E a Michela, por todos os momentos de companhia, distração e risadas durante minha estadia em Recife.

A minha orientadora Kelli, por me proporcionar essa experiência incrível de conhecer esse mundo tão inovador que é a pesquisa com ensaio experimental. Sem seu suporte, ensinamentos e conhecimentos, nada seria possível!

Ao meu co-orientador Hilton Justino, por toda sua trajetória de experiência na pesquisa e tecnologia. Assim como, os integrantes do laboratório LABIMO, em especial, Aline Natallia.

As alunas de iniciação científica: Lísias, Maria Júlia, Gabriela e Maria Eduarda. Obrigada pela disponibilidade, parceria e compromisso. Vocês foram peças chaves!

Aos meus amigos pessoais (que não ousarei citar nomes), por acompanharem todas as etapas desse longo processo, entendendo meus momentos de ausência, tanto física como mental.

Aos meus pacientes, por torcerem pelo meu crescimento e entenderem meus momentos de ausências.

A equipe neonatal, em especial a minha coordenadora Danielly, por todo auxílio durante a etapa de coleta. Muito obrigada!

A FACEPE, por financiar meus experimentos e conceder minha bolsa de estudos. Obrigada.

RESUMO

A obesidade e o excesso de peso têm se tornado um problema mundial de saúde pública e a associação com alterações no desempenho mastigatório tem sido observada. As literaturas têm relacionado a obesidade com um estilo específico de mastigação, evidenciado por menos mastigações por grama de alimento ou por mordida, maior tamanho de mordida o que poderia promover o aumento do consumo alimentar. Nesse contexto, estratégias de tratamento associadas aos danos em decorrência da obesidade são importantes. Com isso, o presente estudo, teve como objetivo avaliar os efeitos da terapia de fotobiomodulação sobre a musculatura e o desempenho mastigatório em modelo experimental de obesidade. Trata-se de um estudo experimental, com ratos Wistar albinos (*Rattus Norvegicus*) provenientes de ratas progenitoras da colônia do Biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Setenta e duas horas após o nascimento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Controle (C): n=17 e redução de ninhada (RN): n=15. Os filhotes foram mantidos com suas mães durante o período de lactação. Aos 22 dias de idade, os animais foram desmamados e alocados em gaiolas de acordo com o uso do laser: C/L1, CL2, RN/L1, RN/L2. Aos 35 dias de vida pós-natal, eles foram eutanasiados (por decapitação) e realizada a dissecação do feixe superficial do músculo masseter para posterior análise. Para cada análise foram utilizados até dois filhotes machos de cada ninhada. As análises utilizadas foram: peso corporal; desempenho mastigatório; temperatura em termografia do músculo masseter durante o repouso e peso do feixe superficial do musculo masseter. Como resultado, foram produzidos dois artigos. O artigo 1, trata-se de uma revisão sistemática, que buscou delinear os efeitos da terapia de fotobiomodulação sobre a musculatura esquelética em modelos experimentais. O artigo 2, buscou avaliar os efeitos da terapia de fotobiomodulação sobre o desempenho mastigatório em modelo experimental de obesidade.

PALAVRAS-CHAVE: supernutrição; obesidade; músculo masseter; redução do tamanho da ninhada; terapia de fotobiomodulação; mastigação.

ABSTRACT

Obesity and overweight have become a worldwide public health problem and the association with changes in masticatory performance has been observed. The literature has linked obesity with a specific chewing style, evidenced by fewer chews per gram of food or per bite, larger bite sizes, which could promote increased food consumption. In this context, treatment strategies associated with damage in the occurrence of obesity are important. Thus, the present study aimed to evaluate the effects of photobiomodulation therapy on musculature and masticatory performance in an experimental model of obesity. This is an experimental study, with albino Wistar rats (*Rattus Norvegicus*) from female rats from the vivarium colony created by the Department of Nutrition at the Federal University of Pernambuco. Seventy-two hours after birth, the animals were randomly distributed into two groups: Control (C): n=17 and litter reduction (RN): n=15. The pups were ordered with their mothers during the lactation period. At 22 days of age, the animals were weaned and allocated in cages according to the use of the laser: C/L1, CL2, RN/L1, RN/L2. At 35 days of postnatal life, they were euthanized (by decapitation) and dissection of the superficial bundle of the masseter muscle was performed for further analysis. Up to two male pups from each litter were used for each analysis. The analyzes used were: body weight; masticatory performance; temperature in thermography of the masseter muscle during rest and weight of the superficial radius of the masseter muscle. As a result, two articles were produced. Article 1 is a systematic review that sought to outline the effects of photobiomodulation therapy on skeletal muscle in experimental models. Article 2 sought to evaluate the effects of photobiomodulation therapy on masticatory performance in an experimental model of obesity.

KEYWORDS: supernutrition; obesity; masseter muscle; reduction in litter size; photobiomodulation therapy

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

Controle	C
Superalimentados	AS
Placebo	P
Terapia de Fotobiomodulação	TFBM
Fotobiomodulação	Fbm
Gramma	G
Redução de Ninhada	RN
Órgãos fonoarticulatório	OFA
Enzima superóxido dismutase	SOD
Adenosina trifosfato	ATP
Photobiomodulation	PBM
Origem desenvolvimentista da saúde e da doença	DOHaD
Cadeia pesada de miosina	MyHC

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS:	13
3. REFERENCIAL TEÓRICO	14
3.1. MASTIGAÇÃO.....	14
3.2. MÚSCULO ESQUELÉTICO MASTIGATÓRIO.....	17
3.3. PLASTICIDADE FENOTÍPICA:.....	20
3.4. MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE.....	23
3.5. TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO.....	26
3.6. TERMOGRAFIA.....	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS:	30
5. RESULTADOS:	40
5.1. ARTIGO 1:.....	41
5.2. ARTIGO 2:.....	61
6. CONCLUSÃO:	78
REFERÊNCIAS:	79
ANEXO A - PARECER FAVORÁVEL	88
ANEXO B - ARTIGOS PUBLICADOS	89
ANEXO C - TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS	90

1. INTRODUÇÃO

A mastigação é caracterizada pela atuação de diversas estruturas orofaciais dos órgãos fonoarticulatórios (OFA) envolvidas. É composta por diversas etapas, para sua realização, iniciando com a incisão dos alimentos com os dentes incisivos centrais e laterais (BARROS, 2016; LAKARS; HERRING, 1980; ISABEL et al., 2015). Dando sequência, a língua realiza o transporte do alimento para porção mais posterior da cavidade oral, onde os dentes posteriores realizam a trituração do alimento. Para finalizar, esse alimento é associado a saliva, e transformado em um bolo alimentar coeso e adequado para a deglutição (LOPES et al, 2019; MELO et al., 2017; LAKARS; HERRING, 1980; ISABEL et al., 2015; MEENAKSHI e PAUL 2017).

O homem, quando recém-nascido, adquire todos os nutrientes necessários para sobrevivência através da função da sucção (SEGALA et al., 2022; WESTNEAT; HALL, 1992; PIZZOL et al., 2012). O rato, inicialmente, apresenta função semelhante, todavia, ao final da segunda semana pós-natal, já é possível observar a transição da função de sucção para mastigação (BROCARD et al., 2006). Os primeiros movimentos mastigatórios aparecem por volta do 12º dia pós-natal, e o padrão adulto é alcançado no 18º- 21º dias de idade (WESTNEAT e HALL 1992).

O amadurecimento da mastigação, possui uma evolução gradativa e depende do crescimento estrutural craniofacial e possui relação direta com o aumento do volume intraoral, da irrupção dentária e da maturação dos músculos e articulações (MOYERS; CARLSON, 1993; ASH; RAMFJORD, 1996; SEGALA et al., 2022), bem como do desenvolvimento do sistema nervoso central (ALSHAMMARI et al. 2022; GOMES, BIANCHINI, 2009; BIANCHINI, 1997). Simultaneamente à evolução morfológica, observa-se, também, mudanças no padrão motor de ingestão alimentar (WESTNEAT, HALL, 1992; BROCARD et al., 2006).

Além de sua função motora durante a ingestão do alimento, a mastigação consiste também em um processo de suma importância para o desencadeamento da fase cefálica do comportamento alimentar (MACHADO et al, 2017; MENEGASSI, 2017; TEFF, MATTES e ENGELMAN, 1991). É possível encontrar na literatura a relação direta na liberação dos hormônios responsáveis pelo apetite e saciedade com o ato do contato do alimento na cavidade oral (MENEGASSI, 2017; AROSIO et al., 2004; MACHADO et al, 2017). Para tanto, a mencionada função motora parece estimular cascatas digestivas e neuroendócrinas, a fim de otimizar a eficiência da digestão e o metabolismo, bem como regular, direta e indiretamente, os

mecanismos de apetite e saciedade, controlando dessa maneira, o tamanho e a duração das refeições (POWER e SCHULKIN 2008; SIMONIAN et al, 2005; MACHADO et al, 2017).

Neste contexto, a literatura apresenta evidências que, condições na alimentação sejam elas de quantidade ou qualidade de alimentos, que atuem no período inicial da alimentação (perinatal e/ou neonatal) podem levar a mudanças com repercussões permanentes na estrutura e função de órgãos (HALES, 1997; MORGANE, MOKLER GALLER, 2002; PLAGEMANN et al. 1992; BENTO-SANTOS et al., 2012). Estudos experimentais mostram que a supernutrição nesses períodos, sinalizam para o surgimento de um fator de risco para obesidade e de distúrbios metabólicos associados (PLAGEMANN et al. 1992, RODRIGUES et al. 2007; JACOBSEN et al., 2017).

Com isso, o sobrepeso e obesidade tem se tornado um dos maiores desafios do século 21 no que se refere à saúde pública. É caracterizado pelo acúmulo de gordura de forma anormal ou excessiva, que reflete em um alto fator de risco para o surgimento de problemas de saúde das formas mais variáveis nos indivíduos (WHO, 2000). Em estudos experimentais, é possível encontrar na literatura diversos modelos de indução de obesidade (PEREIRA et al., 2018; SISHI et al., 2010; CONCEIÇÃO et al., 2011; JACOBSEN et al., 2017; CONCEIÇÃO et al., 2016; SILVA et al., 2020; CREGE et al. 2016).

Na presente pesquisa, será utilizado o modelo de obesidade obtido através da redução de ninhada neonatal (RN). O referido modelo é caracterizado pela redução na ninhada no terceiro dia de vida após o nascimento, permanecendo apenas três filhotes com a mãe e com desmame aos 21 dias de vida (PLAGEMANN et al., 1999; PLAGEMANN et al., 2005). Nesses tipos de estudos, foi observado que mesmo sendo alimentados com ração balanceada, esses animais apresentaram um consumo alimentar maior em decorrência da redução da competição pelo leite durante o período de aleitamento. Resultou assim, em maior ganho de peso, quando comparado aos filhotes da ninhada normal (PLAGEMAN et al., 2010). Como consequência, esses animais desenvolveram hiperfagia, hiperinsulinemia, hipertensão, menor colesterol HDL e obesidade (PLAGEMANN et al., 1999; PLAGEMANN et al., 2005; RODRIGUES et al., 2007; BOULLU-CIOCCA et al., 2005).

Além disso, têm se observado na literatura, cada vez mais a relação existente entre a obesidade com o surgimento de um estilo específico no processo mastigatório. Pode ser caracterizado pela realização de menos mastigações por grama de alimento ou por mordida (KEANE et al., 1981; LI et al., 2011), ritmo de ingestão acelerado (LI et al., 2011; LACERDA et al., 2017), e maior tamanho de mordida (HILL e MCCUTCHEON, 1984; SANTOS et al.,

2023; SANTOS et al., 2023), resultado no aumento do consumo alimentar (FERSTER et al., 1962; WHITE et al., 2015; FERRAZ-PEREIRA et al., 2015;). Tal mudança resulta em uma modificação na seleção dos alimentos para a dieta, com o objetivo de evitar alimentos que são mais difíceis de realizar a mastigação (FRIEDLANDER et al., 2007).

Nesse contexto, estratégias de tratamento associadas aos danos em decorrência da obesidade são importantes. A terapia de fotobiomodulação (TFBM) é uma radiação situada na porção visível do espectro das ondas eletromagnéticas, entre o infravermelho e o ultravioleta, e o comprimento de onda depende do tipo de substância estimulada (ASSIS, SOARES, VICTOR, 2012). É um tratamento não invasivo e de baixo custo, que tem sido utilizado com constante frequência na prática clínica. Sua utilização tem sido observada em especial na fisioterapia para melhorar nos quadros de dor, ou melhora para a regeneração tecidual (CAVALCANTI et al., 2011)

Inúmeros são os efeitos terapêuticos resultantes da intervenção de FBM, dentre eles: ação anti-inflamatória e analgésica, além da ação cicatrizante e moduladora da atividade celular (ASSIS, SOARES, VICTOR, 2012; CAVALCANTI et al., 2011; OLKOSKI et al., 2021). Tem por objetivo melhorar a regeneração muscular, estimulando a proliferação das células musculares e células satélites, intensificar a síntese de proteínas mioblásticas, e aumentar áreas de fibras musculares e densidade mitocondrial. Na fase da inflamação aguda, a terapia de FBM age na mitocôndria, aumentando a transferência de elétron ao longo da cadeia transportadora de elétrons e transporte de prótons através da membrana mitocondrial interna (ASSIS, SOARES, VICTOR, 2012; CAVALCANTI et al., 2011; OLKOSKI et al., 2021).

A relação entre o excesso de peso e alterações mastigatórias tem se tornado objeto de pesquisa crescente na prática clínica. Mas ainda é possível encontrar algumas lacunas referentes à temática. Uma solução para tal dificuldade, pode estar relacionada a aplicação dos estudos translacionais. As pesquisas translacionais surgiram a partir do interesse em se otimizar a saúde humana, a partir dos resultados obtidos em ensaios realizados em laboratórios (BOSIO et al., 2019).

Nesse sentido, as pesquisas translacionais podem ser definidas, como a aplicação de descobertas, através de pesquisas de laboratórios e estudos pré-clínicos, que são realizados de forma bidirecional. Onde as descobertas realizadas em bancadas de laboratórios, são generalizadas para o desenvolvimento de ensaios clínicos para a saúde humana (CABRAL FILHO et al., 2013; BOSIO et al., 2019).

Com isso, torna-se importante evidenciar, a importância da realização de estudos que utilizem modelos experimentais com excesso de peso. Busca-se como objetivo, conhecer melhor os mecanismos que induzem as alterações nos parâmetros mastigatórios. Assim como, quais estratégias podem ser lançadas com o objetivo de intervir de forma benéfica para contribuir no desenvolvimento e função dessa mastigação.

2. OBJETIVOS:

- **Geral:**

Avaliar os efeitos da terapia de fotobiomodulação sobre a musculatura e desempenho mastigatório em modelo experimental de obesidade.

- **Específicos:**

Avaliar os efeitos da terapia de fotobiomodulação em modelo experimental de obesidade sobre:

- o Peso corporal específico e absoluto;
- o Desempenho mastigatório: sequência mastigatória, ciclos mastigatórios, duração da fase mastigatória e taxa mastigatória.
- o Temperatura em termografia do músculo masseter durante o repouso;
- o Peso do feixe superficial do músculo masseter.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. MASTIGAÇÃO

Diferente das demais funções do sistema estomatognático (respiração, sucção e deglutição), que são inatas e inicialmente controladas de forma reflexa, a mastigação é uma função aprendida (TAGLIARO, CALVI, CHIAPPETTA, 2004; SILVA et al., 2016). Seu surgimento acontece de acordo com a evolução do indivíduo e pode sofrer modificações no decorrer do seu desenvolvimento (SILVA et al., 2007; SILVA et al., 2016; FELÍCIO et al., 2007; SACONATO e GUEDES, 2009).

A mastigação pode ser definida como uma das funções mais importantes do sistema estomatognático (PASTANA; COSTA; CHIAPPETTA, 2007; DOUGLAS, 2005). Nela estão relacionados os aspectos nutricionais, de crescimento e desenvolvimento craniofacial. Assim como, no desenvolvimento da musculatura orofacial e das articulações temporomandibulares e estabilidade oclusal (DOUGLAS, 2002).

Quando realizada de forma correta e harmônica, a mastigação contribui para o adequado desenvolvimento, crescimento e estabilidade das arcadas dentárias. Além disso, também é responsável pelo desenvolvimento de ossos, maxilas, manutenção e estabilidade da oclusão e pelo equilíbrio muscular e funcional (PASTANA 2005). Dessa forma, a mastigação se torna essencial na prevenção dos distúrbios miofuncionais, pois estimula a musculatura orofacial, contribuindo para a harmonia e crescimento facial (BIANCHINI 2005; DOUGLAS 2005; GOMES, BIANCHINI, 2009).

Sua realização é composta por três fases, a saber: incisão, onde existe o corte inicial do alimento; trituração, que é caracterizada pela redução do alimento em partículas menores; e, pulverização que é a redução em partículas ainda menores. Durante a realização dessas fases, há trituração e moagem dos alimentos, onde os alimentos são degradados em partículas menores. Logo em seguida, essas partículas são ligadas com a junção da saliva presente na cavidade oral. Assim resulta na produção de um bolo alimentar coeso e adequado para a deglutição (DOUGLAS, 2002; BIANCHINI,1998; PASINATO et al.2016).

Portanto, para que isso ocorra, a mastigação conta com atividade direta da ação dos músculos da língua, músculos da face e músculos mastigatórios, destacando a musculatura esquelética. O músculo esquelético apresenta como característica principal ser um dos tecidos metabolicamente ativos. Dessa forma, exercem funções diretamente ligadas às atividades de

locomoção, do metabolismo e da mastigação (OLIVEIRA et al., 2018; DOUGLAS, 2002; MATSAKAS E PATEL, 2009). Além disso, caracteriza-se por ser um músculo que compõe um dos maiores sistemas de órgãos do corpo, constituindo cerca de 40-50% do peso corporal total (PASSARELLA et al., 1984; ALVES et al., 2014).

Por apresentar características altamente adaptáveis, é um músculo capaz de se remodelar e se adequar bem às variações das demandas ambientais, fisiológicas e de estado nutricional. Por vezes, pode sofrer alterações no tamanho, massa e nas diferentes proporções dos tipos de fibras para melhor adaptação (OLIVEIRA et al., 2018; MATSAKAS E PATEL, 2009). Apresentando período crítico de desenvolvimento do músculo na gestação e lactação (OLIVEIRA et al., 2018; MATSAKAS E PATEL, 2009; BLAAUW et al., 2013). Nesse sentido, podemos observar que os músculos que atuam na ativação da função mastigatória podem ser divididos em dois grupos: os levantadores da mandíbula, sendo eles temporal, masseter e pterigóideo medial. E os abaixadores da mandíbula, pterigóideo lateral, digástrico (ventre anterior), gênio-hióideo e milo-hióideo (DOUGLAS, 2002).

Entre os músculos responsáveis pela mastigação, destaca-se o masseter. O referido músculo, apresenta ativa participação no processo mastigatório, realizando de forma ativa a etapa da trituração do alimento (PEREIRA et al. 2006; RAHAL, GOFFI-GOMEZ, 2009). Atua no movimento de elevação, anteriorização mandibular e estabilização para a oclusão (PEREIRA et al. 2006; RAHAL, GOFFI-GOMEZ, 2009). Além de possuir um papel importante na fisiologia da deglutição, especialmente no que diz respeito à estabilização mandibular durante esta função (HIRAOKA, 2004; OLIVEIRA et al. 2016; WIDMER, ENGLISH e MORRIS-WIMAN, 2007).

Com isso, para que as fases do processo mastigatório ocorram de forma efetiva, se faz necessária a ativação e maturação da atividade muscular. A partir da realização dos movimentos mandibulares mastigatórios, que ocorrem concomitantemente aos estágios críticos do desenvolvimento do sistema nervoso (WESTNEAT, HALL, 1992; BROCARD et al., 2006; LAKARS E HERRING, 1980).

No homem, essas fases do desenvolvimento do sistema nervoso, se destacam no período da embriogênese, por volta do terceiro trimestre da gestação, estendendo-se até o final dos primeiros dois a quatro anos de vida pós-natal (MORGANE, 1978). O aprendizado da função mastigatória é iniciado a partir do momento em que os primeiros dentes decíduos surgem, a partir dos seis meses de idade (HULLAND et al., 2000; ANDRADE e KATZ, 2018). Dessa

forma, os músculos que compõem a mastigação, realizam movimentos de aproximação e/ou afastamento dos dentes (BIANCHINI, 2000). Os primeiros movimentos apresentam características pobres e descoordenadas como os primeiros estágios de qualquer fenômeno motor aprendido (ex.: andar, correr) (DOUGLAS, 2002; SILVA et al, 2016).

Com o amadurecimento de todo o sistema estomatognático e o desenvolvimento da dentição total, que acontece por volta dos 30 meses, estabelecem-se padrões reflexos aprendidos guiados (HULLAND et al., 2000; ANDRADE e KATZ, 2018, FOLAYAN et al., 2007, PATRIANOVA et al., 2010). Além da informação dos proprioceptores, seja periodontal, pela excitação dos mecanorreceptores da articulação temporomandibular, como também dos receptores de tato e pressão da mucosa oral, particularmente da língua (DOUGLAS 2005; INOSTROZA-ALLENDE, 2020).

Inicialmente a mastigação ocorre com movimentos mais verticalizados e com participação ativa da língua para realização do amassamento do alimento contra o palato. Esse movimento vai se refinando, dando início ao processo de rotação de mandíbula no período dos 12 meses, até atingir o padrão mais maduro da mastigação por volta do quinto ano de vida (TANIGUTE, 2005; BIANCHINI, 2000; SILVA et al, 2016).

Nessa idade, é esperado que o indivíduo apresente uma mastigação totalmente desenvolvida semelhante à de um indivíduo adulto. Isso acontece porque após o surgimento da primeira dentição completa, o ciclo da mastigação torna-se estável devido ao amadurecimento do aparelho mastigatório. Surge então, a mastigação bilateral alternada, com realização de movimentos rotatórios e ritmados de mandíbula (SILVA et al, 2016; CATTONI, 2004; HARA, et al. 2010; ENLOW, 1993).

Nos ratos, a nutrição durante o período pós-natal precoce é representada pelo aleitamento materno, assim como no humano (SMOTHERMAN e ROBINSON, 1994). Inicialmente os nutrientes e fluidos são obtidos pelo mamilo materno através do comportamento de sucção. À medida que o animal se desenvolve, é observada a migração do comportamento de sucção para o da mastigação, por volta do final da segunda semana pós-natal. A partir de então, é possível observar o surgimento dos primeiros movimentos mastigatórios por volta do 12º dia pós-natal, atingindo o padrão adulto entre o 18º aos 21º dias de vida (BROCARD et al. 2006; WESTNEAT, HALL, 1992).

Após atingir o padrão maduro, a mastigação dos ratos apresenta como etapa inicial a incisão ou preparatório, onde os alimentos são tocados pelos dentes incisivos e levados a porção

interna da cavidade oral (MOSTAFEEZUR et al., 2012; FERRAZ-PEREIRA et al., 2015; LACERDA et al., 2017). Seguindo para etapa seguinte, denominada como trituração, que é caracterizada pela realização de diversos ciclos de movimento de abrir-fechar da boca, com duração de ciclos irregulares e mais verticais, após a abertura inicial da mandíbula (MOSTAFEEZUR et al., 2012; FERRAZ-PEREIRA et al., 2015; LACERDA et al., 2017). No entanto, ao atingir o período de mastigação rítmica com a realização dos ciclos mastigatórios, o alimento é reduzido a partículas menores pelos molares superiores e inferiores opostos ao da mastigação, onde há a realização de movimentos mais horizontais de mastigação (MOSTAFEEZUR et al., 2012; FERRAZ-PEREIRA et al., 2015; LACERDA et al., 2017).

Por fim, é realizada a pulverização do alimento, onde o animal, realiza o esmagamento e trituração do alimento em partículas ainda menores com auxílio dos molares superior e inferior, seguindo pela transferência do bolo alimentar para a parte posterior da boca, igualmente ao que acontece no processo final realizada na mastigação feita pelo homem (MOSTAFEEZUR et al., 2012; FERRAZ-PEREIRA et al., 2015; LACERDA et al., 2017).

Ferraz-Pereira e colaboradores (2015), analisaram em seu estudo os efeitos que a dieta hipoprotéica no período neonatal, pode contribuir de forma negativa na eficiência mastigatória em ratos. O estudo encontrou como resultado, uma redução de ciclos e sequências mastigatórias em filhotes advindos de genitoras que foram alimentadas com uma dieta pobre em proteínas durante a lactação. Tais resultados se tornam indicativos da redução da eficiência mastigatória.

Semelhante a outros dois estudos realizados com crianças de 7 a 12 anos. Foram analisados o consumo alimentar e o desempenho mastigatório em crianças eutróficas, com sobrepeso e obesas. Em ambos os estudos, foi possível observar um padrão mastigatório alterado, nas crianças com sobrepeso. Caracterizado pela realização de maiores padrões de mordidas no alimento, menor número de sequências mastigatórias e realização de mastigação mais acelerada (SANTOS et al, 2023; SANTOS et al, 2023). Além disso, foi observado que as crianças com sobrepeso, apresentam preferência de seleção de alimentos que sejam mais ultra processados, realizando um baixo consumo de alimentos frescos (SANTOS et al, 2023).

3.2. MÚSCULO ESQUELÉTICO MASTIGATÓRIO

A musculatura esquelética é considerada o tecido que mais pode ser encontrado no corpo humano. Representando cerca de 40 a 45% do peso corporal total, composto por 660 músculos espalhados pelo corpo, com diferentes funções e objetivos (PASSARELLA et al., 1984; ALVES et al., 2014).

É um tecido metabolicamente ativo e altamente adaptável, se remodelando às necessidades fisiológicas e ambientais, necessárias para o bom funcionamento. Para isso, realiza mudanças fenotípicas em sua proporção e tipo de fibra, por meio das mudanças de expressão gênicas (OLIVEIRA et al., 2018; DOUGLAS, 2002; MATSAKAS E PATEL, 2009).

Sua origem se dá na embriogênese e se estende até o período neonatal (BOYLE, 2011). A literatura mostra que nesse período o músculo sofre mudanças importantes, e são essas alterações, que podem contribuir de forma direta na correta função metabólica do músculo esquelético na vida adulta (BOYLE, 2011; FERRAZ-PEREIRA, 2015; PERRY, 1970).

É caracterizado pela presença de sarcômeros, que contém as principais proteínas responsáveis pela contração da fibra muscular: actina e miosina. No que se refere ao tipo de fibra, a classificação mais aceita para a musculatura, se refere a tipologia da fibra, sendo baseada na expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina (MyHC). De acordo com a sua contração muscular, pode ser classificada em: contração lenta (tipo I) e de contração rápida (tipo II) (JANSEN e PAVLATH, 2006; HOOPER e THUMA, 2005; PIOVESAN et al., 2009).

As fibras do tipo I são caracterizadas pela baixa velocidade de contração, relaxamento, baixa capacidade de gerar força, mas alta resistência à fadiga. Já as fibras do tipo II, são fibras rápidas, apresentam baixa resistência à fadiga e possuem a subdivisão: IIa, IIb e IIx. A fibra do tipo IIa é caracterizada por ser uma fibra de contração rápida intermediária, porém com certa resistência à fadiga. Diferente da IIb, que é caracterizada por ter contração mais rápida que a IIa, mas apresenta menor resistência à fadiga (LEFEUVRE et al., 1996; BALDWIN e HADDAD, 2001).

A composição das fibras no músculo apresenta relação direta de acordo com a função que o músculo exerce. Nesse sentido, os músculos responsáveis pelo controle postural possuem maior proporção de fibras de contração lenta (tipo I). Já os músculos que necessitam de atividade de rápida de contração, possuem maior quantidade de fibras de contração rápida (tipo II) (PIOVESAN et al., 2009; LIBERA e CARPENE, 1997).

Além disso, o músculo esquelético possui relação direta com as vias metabólicas, tendo em vista que os músculos são os principais locais para a captação de glicose do sangue estimulada pela insulina, sendo cruciais na manutenção da homeostase da glicose. Dessa forma, exerce um papel fundamental na atividade metabólica, atuando na transformação da energia química em energia mecânica, para a ativação dos movimentos (FERREIRA, 2005).

Os músculos mastigatórios são considerados os elementos mais ativos do sistema estomatognático (DOUGLAS, 2005). Dentre os músculos responsáveis pela mastigação, destaca-se o masseter, sendo considerado o mais ativo e maior músculo da mastigação. Apresenta participação no processo mastigatório, com principal função a de elevação mandibular, gerando a força necessária para que haja a quebra do alimento, realizando de forma ativa a etapa da trituração do alimento (TIELAND et al. 2017; PEREIRA et al. 2006; RAHAL, GOFFI-GOMEZ, 2009).

No homem, o músculo masseter, caracteriza-se por ser um músculo com grande força de contração, sendo composto por um feixe superficial e outro profundo. O feixe superficial tem origem na margem inferior do osso zigomático e inserção na metade do osso zigomático. Já o feixe profundo, apresenta origem no arco zigomático e inserção no ângulo da mandíbula (MACIEL, 1996; MADEIRA, 2001)

Em roedores, o músculo masseter apresenta-se de forma bem desenvolvida e é caracterizado por compor cerca de 60% a 80% da musculatura mastigatória (TURNBULL, 1970). Didaticamente, é dividido em duas camadas: o masseter superficial e o masseter profundo (FIGURA 1) (WOOD, 1965). A parte superficial, origina-se na porção anterior do processo alveolar da maxila e tem inserção na face lateral da mandíbula. Já o masseter profundo tem sua origem no osso zigomático e inserção na superfície lateral da mandíbula, cobrindo grande parte desta superfície (HADDAD, 2018). Semelhante ao que ocorre nos humanos, tem como função, a contribuição nos movimentos de elevação e protrusão da mandíbula durante a mastigação (SPATARU et al. 2013; WOOD, 1965).

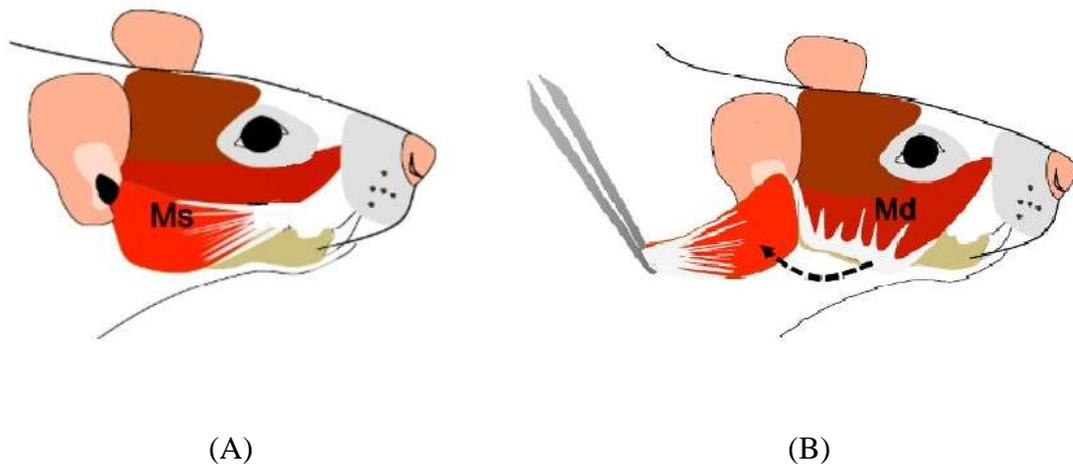


FIGURA 01: Cabeça do rato em vista lateral direita. Em figura (A), pode ser vista a dissecação do feixe superficial do músculo masseter e em figura (B) a dissecação do feixe profundo do músculo masseter. Imagem adaptada de Monroy, et al., 2015.

Nesse sentido, para que exista a execução da função mastigatória de forma adequada e efetiva, a mastigação necessita de atividade muscular suficiente para realizar os movimentos mandibulares mastigatórios e, assim, gerar força para reduzir o tamanho das partículas de alimentos que serão deglutidas (DOUGLAS, 2002).

A literatura sinaliza que o padrão adulto de movimentos mastigatórios (abertura e fechamento da mandíbula) só pode ser estabelecido com a maturação do complexo craniofacial (LAKARS; HERRING, 1980). Os músculos orais (músculos mastigatórios, a exemplo do músculo masseter, e supra-hióideos), com o desmame, mostram alterações funcionais, morfológicas e bioquímicas durante o desenvolvimento (DELLOW & LUND, 1971; SAITO, et al., 2003). Vários estudos demonstraram alterações nas propriedades das fibras dos músculos mastigatórios durante o crescimento e desenvolvimento muscular (KOGO et al., 1996; MATSAKAS E PATEL, 2009; BLAAUW, et al., 2013).

Após o desmame, com a transição da função de sucção para mastigação, observa-se aumento na proporção da composição do MyHC-2b (contração rápida e alta força contrátil) no músculo masseter (KOGO et al., 1996), crescimento muscular rápido (MAEDA et al., 1981b; MIYATA et al., 1996); perfis de expressão de cadeias pesadas de miosina mudam (SAITO et al., 2002a); os diâmetros dos motoneurônios que inervam o músculo masseter aumentam e o padrão da eletromiografia muda acentuadamente (KUBOTA et al., 1988; MIYATA et al., 1996).

Em estudo realizado com ratos observou-se os efeitos que a desnutrição na fase neonatal nos músculos da mastigação (masseter) e nos circuitos neuronais. Como resultado, foi possível observar aumento das proporções de fibra tipo IIA e redução das fibras do tipo IIB no músculo masseter. Sugerindo um atraso na maturação fenotípica e morfológica do músculo masseter, em animais que apresentaram o efeito da desnutrição (FERRAZ-PEREIRA et al., 2015).

3.3. PLASTICIDADE FENOTÍPICA:

O fenótipo pode ser definido como o resultado da interação do ambiente com o genótipo (conjunto de genes). Essas interações do ambiente contribuem com interferências diretamente ligadas ao genótipo, que como respostas, resultam em alterações para adequação do organismo aos desafios impostos pelo ambiente, gerando assim, um novo fenótipo (WEST-EBERHARD,

1986; LACERDA et al., 2017; GLUCKMAN et al, 2011). Essa capacidade de transformação e adaptação aos desafios impostos pelo ambiente é chamada de “plasticidade fenotípica”.

A plasticidade fenotípica pode ser caracterizada pela capacidade em que o organismo apresenta de se reorganizar, em resposta às modificações impostas pelo ambiente. Resultando em mudanças relacionadas a função, estado ou forma (GLUCKMAN et al, 2011; WELLS, 2014, 2019).

Na literatura é possível observar os primeiros registros acerca da temática da plasticidade fenotípica e do DOHaD (Origem desenvolvimentista da saúde e da doença), nos estudos de Ravelli e colaboradores (1976). Durante esse período, observou-se que uma grande parte da população dos países da Europa, em especial o oeste da Holanda, teve privação no recebimento de alimentos, como resultado da Segunda Guerra Mundial. Diante disso, Ravelli e colaboradores (1976), analisaram os efeitos a longo prazo dessa situação, nos grupos de jovens que viviam na Holanda.

Para isso, foi realizada a análise com mais de 300 mil jovens, filhos de mulheres que foram expostas à privação alimentar, durante o período da guerra denominada "fome holandesa". Como resultado, foi identificado que a desnutrição na gestação, gerou como consequência, o aumento das taxas de obesidade e na associação de alterações metabólicas desses indivíduos (RAVELLI; STEIN; SUSSER, 1976).

Foi possível observar que a desnutrição durante o último trimestre de gravidez e os primeiros meses de vida, resultou em baixos níveis de obesidade. Em contrapartida, se a desnutrição ocorreu no período inicial da gravidez (primeiros trimestres), observou-se como consequência o surgimento do aumento da incidência de obesidade (RAVELLI; STEIN; SUSSER, 1976).

Alguns anos depois, Barker e colaboradores (1989), defenderam a hipótese de que condições adversas que incidirem no período intrauterino e infância, resultam no aumento do risco de doenças cardiovasculares. Como resultado, foi possível observar que esses indivíduos apresentaram alterações até a fase adulta, com maior propensão a aumento da pressão arterial e diabetes do tipo 2 (BARKER et al., 1989; HALER e BARKER, 1992).

Nesse sentido, Lucas (1991) referiu existir uma “programação” quando observada a presença de um evento de forma precoce e que agisse diretamente nos períodos críticos do desenvolvimento. Como resultado a essa “programação”, é possível observar uma mudança permanente ou de longo prazo na estrutura ou função do organismo.

A partir disso, surgiram diversos estudos que sinalizam que, mudanças que ocorrem no período inicial do desenvolvimento do indivíduo, mesmo que ocorra de forma sutil, podem gerar mudanças fenotípicas. O que resulta em alterações na expressão da carga genética que repercutem na saúde do mesmo a longo prazo, permanecendo até a fase adulta (GLUCKMAN et al, 2011; CADENA-BURBANO et al., 2017; FERRAZ-PEREIRA et al., 2013; LACERDA et al., 2017; BARKER, 1986; HALES et al., 1991; WELLS, et al., 2019; MOURA et al., 2008).

Uma das variações da plasticidade fenotípica que pode ser vastamente encontrada, refere-se aos fatores nutricionais (DE MOURA; LISBOA; PASSOS, 2008). A literatura aponta que a nutrição materna exerce papel fundamental no crescimento e desenvolvimento fetal (BLACK, 1999; MORGANE, 1993).

Além disso, sabe-se que o período inicial da alimentação (perinatal ou pós-natal), possui fundamental importância para o correto e efetivo desenvolvimento. Nesse sentido, quando existe uma supernutrição ou uma diminuição de ingestão, nos períodos críticos do desenvolvimento, tais alterações podem ter consequências duradouras para a fase adulta (HALLAL et al., 2012; OZANNE, HALES, 2004; MILAGRO, 2012).

Uma revisão de literatura realizada por Ferraz-Pereira e colaboradores (2018), buscou-se analisar os efeitos da dieta hipoprotéica no período perinatal e sua influência no desenvolvimento estrutural e fisiológico de mastigação. Como resultado, observou-se que a desnutrição neonatal gerou programações que repercutiram de forma negativa na estruturação e função do sistema estomatognático, em especial na função mastigatória. Sendo observado alterações no crescimento mandibular, atraso na erupção dentária, com presença de limitação no crescimento dos dentes incisivos e molares, bem como, o aumento de presença de cáries dentárias. Tais repercussões, podem contribuir diretamente de forma negativa nas etapas da função mastigatória (FERRAZ-PEREIRA, et al., 2015).

Em outra revisão realizada por Chaves e colaboradores (2020), realizou a discussão a respeito da influência dos efeitos da dieta materna rica em gordura (HFD) no comportamento alimentar e na composição corporal da prole. Para isso, foram utilizados estudos com roedores, onde foram analisados os filhotes de mães expostos a uma dieta rica em gordura durante a gestação e/ou lactação. Como resultado, foi possível observar que a exposição materna a um HFD leva ao aumento da ingestão de alimentos, maior preferência por HFDs e independência alimentar precoce na prole. Como consequência, embora os filhotes apresentassem baixo peso ao nascer, ao atingir a fase adulta, apresentaram aumento de peso, resultando na alteração da

composição corporal da prole, com maior deposição de gordura nas almofadas de tecido adiposo branco.

Semelhante a outra revisão realizada, que buscou explicar a relação existente entre a influência dos eventos que acometem o indivíduo de forma precoce, e como eles podem incidir no desenvolvimento até a fase adulta. Para isso, foi realizada busca na base de dados, a fim de entender como esses eventos precoces podem influenciar o desenvolvimento corporal e entender a relação existente entre o baixo peso ao nascer e risco de obesidade na fase adulta. Como resultado, foi possível observar a relação existente no surgimento de problemas cardiometabólicos e obesidade advindos das deficiências existentes ainda no período intrauterino. No entanto, os autores destacam a possibilidade da existência da reprogramação fenotípica, através da oferta nutricional adequada, reduzindo assim, os riscos de obesidade (RIBEIRO et al., 2015).

Em outro estudo, dessa vez, realizado com ratos submetidos a modelo experimental de paralisia cerebral, foi avaliado os impactos causados pela desnutrição no período perinatal sobre o padrão sensório-motor. Para isso, foram analisados os parâmetros morfológicos, funcionais e comportamentais da mastigação. Como resultado, foi encontrado que os animais induzidos a desnutrição perinatal e que foram submetidos ao modelo experimental de paralisia cerebral, tiveram o surgimento de danos mastigatórios, de forma exacerbada e precoce. Resultou em alterações no padrão sensório-motor da mastigação e no fenótipo das fibras musculares (do músculo masseter e músculo digástrico) (LACERDA et al., 2017).

3.4. MODELO EXPERIMENTAL DE OBESIDADE

O sobrepeso e a obesidade são patologias crônicas, que afetam a saúde geral do indivíduo. Resultam no acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, sendo causadas por um desequilíbrio entre as calorias consumidas e gastas (WHO, 2000).

Apresenta etiologia multifatorial. Podem ser decorrentes de uma combinação de fatores que incluem hábitos alimentares errôneos, propensão genética e desmame precoce. Também podem sofrer influência do estilo de vida familiar, condição socioeconômica e fatores psicológicos, o que resulta em dificuldades para realizar a manutenção do peso saudável (TADA, 2018; KOLOTKIN et al., 2001).

A literatura aponta que o período da lactação pode ser considerado um período crítico para o desenvolvimento do indivíduo (PLAGEMANN et al., 1999). Dessa forma, Plagemann e colaboradores (1999) sinalizam que altos níveis de aporte nutricional em períodos precoces do

desenvolvimento, promove uma programação metabólica, que pode perdurar durante toda a vida. Dessa forma, sendo a fase que pode determinar o ganho de massa corporal do indivíduo ao longo da vida (STOCKER e CAWTHORNE, 2008; HABBOUT et al., 2013; PLAGEMANN et al., 1999).

Para tanto, além da utilização de estudos epidemiológicos e clínicos, tem se observado o aumento na utilização de modelos experimentais de animais, para compreender a fisiopatologia da obesidade e sua associação com demais funções (RINALDI, et al., 2012). É possível encontrar na literatura, diversos tipos de modelos experimentais tais como: culturas de células e tecidos (pesquisa in vitro), animais de laboratório (pesquisa in vivo), estudos anatômicos, que geralmente são em cadáveres de seres humanos, dentre outros (FERREIRA et al., 2005). Nesse sentido, foi selecionado o modelo experimental de animais de laboratório, com modelos de obesidade para o referido estudo.

Diversos são os modelos experimentais utilizados para a realização da indução de obesidade, sejam eles utilizando alterações nas dietas (tipo hiperlipídica, hiperprotéica, hipercalóricadieta e de cafeteria) ou através da redução de ninhada neonatal (PEREIRA et al., 2018; SISHI et al., 2010; CONCEIÇÃO et al., 2011; JACOBSEN et al., 2017; CONCEIÇÃO et al., 2016; SILVA et al., 2020; CREGE et al. 2016). Sendo utilizado em sua maioria roedores, por permitir a obtenção de respostas em menor espaço de tempo (VON DIEMEN et al., 2006) e por apresentar características gene-ambiente mais semelhante a obesidade humana (CASTRO et al., 2018; COLTRI, 2017).

Um dos modelos experimentais que tem sido vastamente utilizado para obtenção da obesidade é o de redução de ninhada neonatal (RN). É caracterizada pela indução da obesidade, através da supernutrição no início da vida. Onde, é realizada a redução na ninhada no terceiro dia de vida após o nascimento, permanecendo apenas três filhotes com a mãe em cada ninhada. Enquanto no grupo controle o tamanho da ninhada é ajustado para nove filhotes por mãe. Ambos os grupos apresentam acesso livre a água e alimento (PLAGEMANN et al., 1999; PLAGEMANN et al., 2005).

Como resultado, é possível observar um aumento na oferta de leite e calorias do filhote. Após o desmame, aos 21 dias de vida, é constatado que esses animais apresentam maior consumo alimentar, com maior ganho de peso, se comparado ao grupo de ninhada normal (PLAGEMANN et al., 1999; PLAGEMANN et al., 2005) (FIGURA 2).

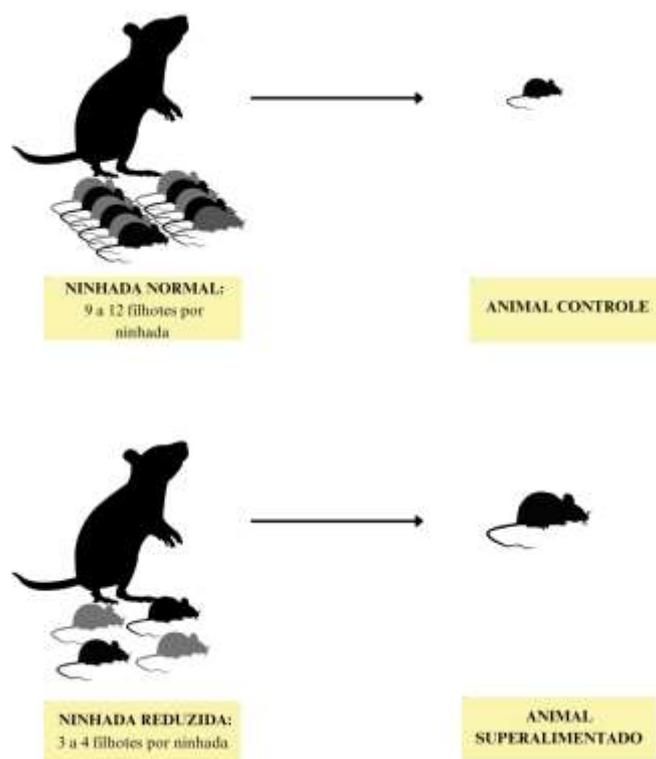


FIGURA 02: Modelo de supernutrição por redução do tamanho da ninhada neonatal em roedores. Adaptado de Habbout et al. (2013).

O resultado para obesidade nesse grupo surge, pois, os filhotes apresentam menor concorrência para alimentação, apresentando níveis altos de ingestão. Como consequência, é possível observar o desenvolvimento de hiperfagia persistente, obesidade, triglicerídeos elevados, aumento da pressão arterial sistólica, hiperleptinemia, hiperinsulinemia e diminuição da tolerância à glicose (YOU et al. 1990; PLAGEMANN et al., 1992; PLAGEMANN et al., 2008).

Partindo desse pressuposto, já é vastamente documentado que a obesidade e o sobrepeso apresentam diversas consequências associadas ao quadro, que vão desde alterações metabólicas, psicológicas, anatômicas e fisiológicas (STRAUSS, 2000; ARAUJO, 2019).

Além disso, também é possível encontrar na literatura a relação existente entre a obesidade com um estilo específico de mastigação, evidenciado por menos mastigações por grama de alimento ou por mordida (KEANE et al., 1981; LI et al., 2011), alterações no ritmo de ingestão (LI et al., 2011), e alteração no tamanho de mordida (HILL, MCCUTCHEON, 1984). Como consequência, é possível observar aumento do consumo alimentar (FERSTER et al., 1962; WHITE et al., 2015).

3.5. TERAPIA DE FOTOBIMODULAÇÃO

O LASER, acrônimo de Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation (Amplificação da Luz por Emissão Estimulada de Radiação), é um dispositivo que apresenta como principal função, a emissão de energia eletromagnética não-ionizante, monocromática, coerente e colimada (KARU, 1989).

Pode apresentar-se com dois tipos de classificação: laser de alta potência e laser de baixa potência. Os lasers de alta potência são caracterizados por apresentarem maior produção de energia. Sua principal utilização destina-se para a realização de cortes teciduais, especialmente durante procedimentos cirúrgicos (MELIS et al., 2012; ALVES, 2020; MÁXIMO et al., 2022).

Já os de baixa potência, são utilizados como meios terapêuticos e são caracterizados pela baixa produção de energia e não alteração de temperaturas na pele. Dessa forma, proporcionam como principal efeito, a absorção da luz, que resultam no efeito de bioestimulação ou bioinibição para as reações químicas e fisiológicas naturais dos tecidos que sofrem a intervenção. Regulando assim, as funções fisiológicas celulares após sua absorção (MELIS et al., 2012; ALVES, 2020).

Contudo, com o avanço da literatura, observou-se que outras fontes de luz, como o LED (Light Emitting Diode), começaram a ser utilizadas como efeito terapêutico. Dessa forma, foi então observado que o LED também poderia contribuir de forma benéfica para os efeitos fotobioestimulatórios (KARU, 2010). Com isso, o termo “laser de baixa potência” passou a ser mais comumente conhecido como terapia de fotobimodulação (TFBM) e tem sido cada vez mais administrada nos últimos anos (HAMBLIN, 2018).

Diversos são os objetivos de tratamento que a fotobimodulação proporciona, a depender das necessidades biológicas que o indivíduo esteja necessitando em determinado momento (DE BRITO BITENCOURT et al., 2018; FERREIRA et al., 2021). Dentre eles, é possível observar na literatura seu uso na tentativa de retardar o processo de fadiga muscular e melhorar o desempenho muscular (DE BRITO BITENCOURT ET AL., 2018; FERREIRA et al., 2021). Como também, atuação como agente anti-inflamatório pós-lesão, analgésico para dor miofascial e melhora da regeneração muscular (ALVES et al., 2014; KAVIANI et al., 2011; CARVALO et al., 2015).

Além disso, pode proporcionar a estimulação e proliferação das células musculares e células satélites, intensificando a síntese de proteínas mioblásticas, e aumentando as áreas de fibras musculares, densidade mitocondrial e respiração mitocondrial (PASSARELLA et al.,

1984; DE BRITO BITENCOURT et al.,2018; FERREIRA, 2022; HEISKANEN e HAMBLIN, 2018; HAMBLIN, 2017).

Em resumo, a TFBM promove o equilíbrio oxidativo, aumentando os níveis da enzima superóxido dismutase (SOD). Na literatura é possível encontrar a associação da utilização da TFBM e melhora da oxigenação periférica da musculatura. A justificativa para tal resultado, refere-se as mudanças estruturais nas fibras musculares, o que resulta no aumento dos capilares e conseqüentemente alterações a nível mitocondrial (ALVES et al, 2014).

Diante disso, é possível observar a importância da via mitocondrial relacionados aos efeitos da TFBM, o que resulta na melhora da performance muscular, com prevenção da fadiga e reparando danos musculares. É proposto que a TFBM melhora o potencial da membrana mitocondrial e a atividade das enzimas na cadeia respiratória, o que favorece para que a mitocôndria forneça maiores níveis de oxigenação e adenosina trifosfato (ATP) para as células (FERRARESI; HAMBLIM; PARIZOTTO, 2012; DE BRITO BITENCOURT et al.,2018).

Sua utilização é vastamente documentada na literatura científica, com utilização em humanos, nas diferentes áreas de atuação. No entanto, foi com a experimentação animal, que se deu origem às primeiras evidências científicas a respeito dos efeitos da TFBM. Mester e colaboradores (1971) inicialmente analisaram a eficácia do tratamento de tumores implantados no dorso de ratos, com a utilização de irradiação a LASER. Como resultado, não encontraram resultados positivos referentes a redução do tumor, mas foi observado rápido crescimento dos pelos nas feridas dos animais irradiados, quando comparados ao grupo controle.

Dessa forma, tornou-se cada vez mais crescente a realização de estudos que visem a utilização da TFBM em modelo experimental e em humanos. Sendo necessário estabelecer protocolos dosimétricos nos diferentes tipos de intervenções, tendo em vista, que os efeitos da TFBM possuem relação direta com a seleção dos parâmetros utilizados, evitando assim, a superdosagem ou dosagens inferiores ao necessário (ALVES, FURLAN e MOTTA. 2019; HUANG et al., 2019). Informações como: potência do aparelho, comprimento da onda, diâmetro do feixe, área do feixe, energia por ponto e energia total, modo de emissão, tempo de irradiação, densidade de potência e quantidade de aplicações, são imprescindíveis para a efetividade do tratamento (HUANG et al., 2011).

No entanto, estabelecer os dados referentes à dosimetria, ainda pode ser considerado um desafio. Considera-se a divergência existente nos protocolos para aplicação da intervenção com fotobiomodulação, para um mesmo objetivo proposto (ALVES, FURLAN e MOTTA. 2019;

HUANG et al., 2019). Ferreira e colaboradores (2021) em sua recente revisão de literatura, ressaltam a contribuição da TFBM na reabilitação de cabeça e pescoço, no entanto, os autores sinalizam que ainda existe uma divergência na literatura sobre os dados dosimétricos a serem utilizados. Existindo heterogeneidade das metodologias e dos resultados encontrados, sendo necessário diversidade nos objetivos dos estudos, visando a definição de protocolos desta ferramenta.

Tal resultado é semelhante a outra revisão realizada por Alves e colaboradores (2019). Em sua pesquisa, foi realizada uma revisão integrativa de literatura, onde buscou-se analisar a influência do laser de baixa intensidade no desempenho do músculo esquelético e identificar os parâmetros dosimétricos mais utilizados. Como resultado, observou-se melhora na atuação do laser no desempenho muscular. No entanto, no que se refere à metodologia utilizada e aos dados dosimétricos, observou-se ampla diversidade nos dados, impossibilitando a identificação dos parâmetros eficazes para tal resultado.

3.6. TERMOGRAFIA

A literatura mostra que inicialmente, o uso da termografia associava sua utilização ao âmbito da engenharia e indústria, com uma vasta trajetória no que se refere a sua utilização (RESHETNIKOV et al., 2015; CASAS-ALVARADO et al., 2022). No entanto, é possível observar o seu crescente uso também nas áreas médicas, auxiliando no diagnóstico das diferentes patologias.

Na literatura, os primeiros registros associados a utilização da termografia na área médica aconteceram em 1956, onde Lawson utilizou a termografia para realizar detecção do aumento da temperatura sobre o local do tumor, em uma paciente que apresentava câncer de mama (LAWSON, 1956). Em outro estudo, considerado pioneiro, Williams e colaboradores (1960) avaliaram 200 casos de neoplasia mamária e confirmaram um aumento de temperatura nas regiões afetadas, através do uso da termografia. Desde então, a termografia vem apresentando crescente utilização nas diferentes pesquisas relacionadas à saúde, tendo como destaque o diagnóstico médico, sejam eles em humanos ou animais.

A termografia pode ser definida como um método de diagnóstico de imagem, não invasivo, indolor, rápido, livre de radiação e de fácil execução. Apresenta como característica principal, a realização de captura de imagens infravermelhas de estruturas do sistema musculoesquelético, vascular, nervoso, dentre outros (BRIOSCHI et al. 2001; SHTERENSHIS, 2017). A produção das imagens, é realizada através da captação do calor emitido pela região

do corpo que está em análise, como respostas a situações termorreguladoras que o corpo produz (AMORIM, 2018; NIEDZIELSKA et al., 2017).

A captação de informações do calor da superfície selecionada, através da imagem digital realizada (termograma), é analisada de acordo com as cores que o termograma apresenta como respostas após a análise. Dessa forma, cada cor é responsável por representar uma distinta faixa de temperatura, variando entre: rainbow – branco, vermelho, laranja, amarelo, verde, azul celeste, azul royal e violeta (BRIOSCHI et al., 2007; AMORIM et al., 2018; NIEDZIELSKA et al., 2017).

Nesse sentido, regiões mais frias, ou seja, com menor número de vascularização (ex. as extremidades), são representadas pelas cores mais frias, como o azul e violeta. Em contrapartida, as regiões mais bem vascularizadas, são representadas pelas cores mais quentes como: vermelho, laranja e amarelo (RING e AMMER, 2012; AMORIM et al., 2018). Nesse sentido, se torna possível, através do termograma, indicar os níveis de normalidade ou patológicos apresentados pelo organismo em tempo real, a níveis funcionais, nervosos e vasculares (AMORIM et al., 2018; NIEDZIELSKA et al., 2017).

Entretanto, para que se consiga obter resultados fidedignos com a termografia, se faz-se necessária a adequação do ambiente em que será realizado o procedimento de captura da imagem (AMORIM et al., 2018). O indivíduo ou animal a ser analisado, deve permanecer no ambiente por cerca de 15min, para haver adequação com a temperatura ambiente. Além disso, a sala deve apresentar temperatura padronizada com valores entre 22° e 24°c, com umidade relativa do ar entre 40 e 60%. Para tanto, se torna imprescindível a utilização do monitoramento com termo-higrômetro digital, durante a utilização da termografia (BRIOSCHI, 2011; AMORIM et al., 2018).

Posto isso, sua indicação diagnóstica tem se tornado cada vez mais crescente no cenário clínico e de pesquisa. Torna-se, assim, importante destacar a facilidade na obtenção de informações de forma precisa e imediata, sem a necessidade de contato físico com o objeto que será analisado (SHTERENSHIS, 2017).

Nesse sentido, tem se observado o crescente uso da termografia no cenário da pesquisa experimental. Objetivando o bem-estar do animal e priorizando a redução de viés, a termografia tornou-se um instrumento facilitador e viável para a utilização de análise com animais. Por ser um equipamento não invasivo, consegue preservar e manter um conforto e bem-estar animal

maior aos animais expostos (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2020; CHOTARD et al., 2018).

Na literatura, é possível encontrar o uso da termografia nos diferentes grupos de animais, sejam eles de grande porte como cavalos e primatas (WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ et al., 2020; CHOTARD et al., 2018), animais domésticos como cães e gatos (TSUJIMOTO et al., 2017), quanto os de pequeno porte, como os roedores e aves (KUBOTA e SUNADA, 2018; EGUIBAR et al., 2017; SOROKO e ZABORSKI, 2020).

A utilização de ensaios experimentais com roedores tem se tornado cada vez mais crescente na literatura, contribuindo de forma benéfica para a descoberta de tratamentos, intervenções e medidas profiláticas que acometem os humanos (CHORILLI et al., 2007). A seleção desses animais, se dá por serem animais que apresentam maturação dos sistemas fisiológicos semelhantes ao do humano, além de apresentarem ciclos reprodutivos curtos, se comparados a outros animais, o que reduz custos (BENTO-SANTOS et al., 2012).

No entanto, ainda é possível observar uma lacuna referente aos ensaios experimentais voltados à musculatura de cabeça e pescoço, associado ao uso da termografia, sendo necessários estudos mais direcionados a essas demandas de pesquisa.

4. MATERIAIS E MÉTODOS:

Área do estudo e Delineamento da pesquisa:

Estudo experimental. A coleta de dados foi realizada no Biotério do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco–UFPE.

Amostra do estudo:

Foram utilizados 32 ratos machos Wistar albinos (*Rattus Norvegicus*) provenientes de 14 ratas progenitoras da colônia do Biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Método de coleta de dados:

Todos os procedimentos experimentais obedeceram às diretrizes e foram conduzidos de acordo com as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA e endossados pelo Comitê de Ética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil (APÊNDICE A).

A coleta de dados, encontra-se com parecer favorável pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, processo nº: 0096/2021 (ANEXO A).

As informações colhidas foram registradas na ficha de extração, elaborada pelo autor, a fim de facilitar e otimizar a extração das informações. Em seguida, os dados foram tabulados em arquivo de banco de dados no Microsoft Excel para posterior análise estatística.

Para tanto, foi realizado um fluxograma, visando melhor compreensão das etapas de realização do experimento (FIGURA 3):

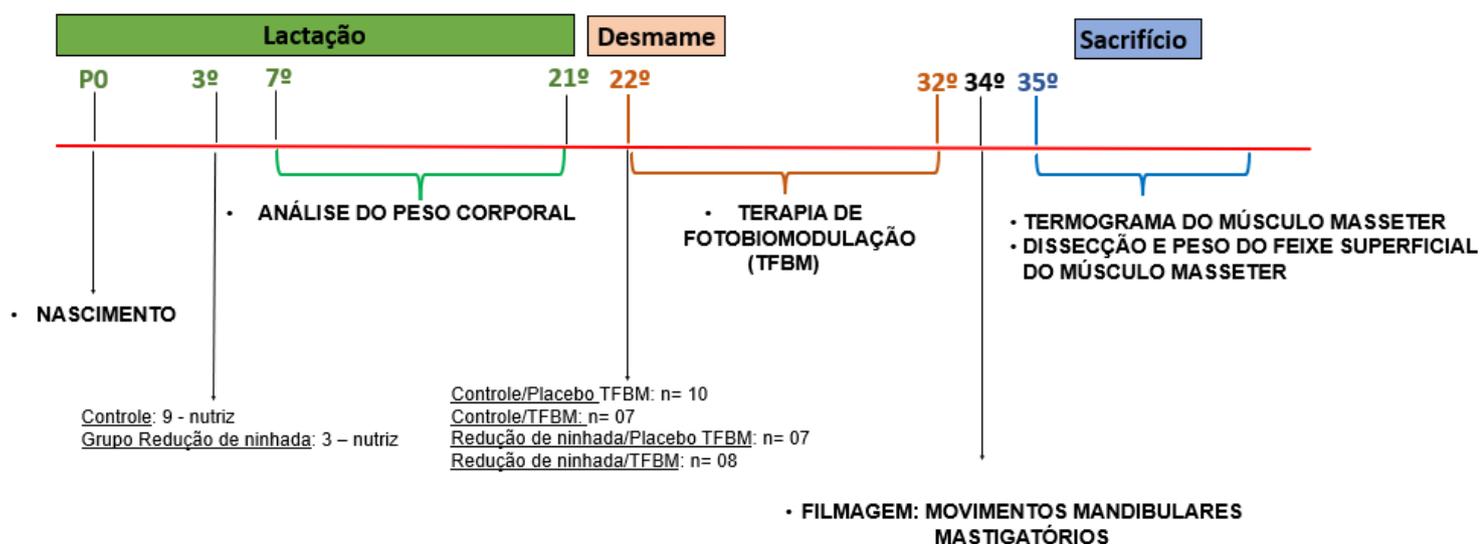


FIGURA 03: Fluxograma com as etapas de realização do experimento com os ratos desde o nascimento (0 dia) até o dia do sacrifício (35 dias).

Animais e grupos experimentais:

Foram utilizados 32 ratos Wistar albinos (*Rattus Norvegicus*) provenientes de ratas progenitoras da colônia do Biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Setenta e duas horas após o nascimento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Controle (C; 9 filhotes por nutriz; n=17) ou redução de ninhada (RN; 3 animais por nutriz; n=15) (PLAGEMANN et al., 2009). Os filhotes foram mantidos com suas mães durante o período de lactação.

Aos 22 dias de idade, os animais foram desmamados e alocados em gaiolas com um total de três filhotes por gaiola até a realização das análises aos 35 dias de vida pós-natal, quando eles foram eutanasiados (por decapitação).

Para cada análise foram utilizados até dois filhotes machos de cada ninhada. Estes ratos foram mantidos no Biotério do Departamento de Nutrição –UFPE desde o período de adaptação até o final dos experimentos (FIGURA 4).



Figura 04: Biotério do Departamento de Nutrição –UFPE, onde os animais eram alocados, desde o início do nascimento até o final dos experimentos. Possuíam livre acesso à água e a alimentação

Foram utilizadas condições padrão de biotério (temperatura de $23^{\circ}\text{C}\pm 1$, ciclo claro-escuro de 12/12 horas - escuro: 8:00h às 20:00h / claro: 20:00h às 8:00h), livre acesso à água e a alimentação. Os animais receberam a dieta comercial padrão do biotério (Labina-Purina®).

Terapia Fotobiomodulação (TFBM):

A partir dos 22 dias de idade, os animais foram divididos em grupos de acordo com o uso do laser. Assim, foram constituídos os seguintes grupos: Controle/L1 (n=10) e Controle/L2 (n=7), constituído por 9 filhotes por nutriz e, Redução de Ninhada/L1 (n=7) e Redução de Ninhada/L2 (n=8), composto por 3 filhotes por nutriz. As aplicações de laser foram realizadas em ambos os grupos com aplicação de laser placebo (L1) e laser ativo (L2).

Inicialmente os animais foram submetidos a um período de três horas de privação alimentar (9:00 às 12:00 hs), visando a não utilização ativa da musculatura. Em seguida (das 12:00 às 13:00 hs), os animais foram alocados individualmente em gaiolas e foram iniciadas as

aplicações. Os animais foram contidos pelos pesquisadores, de maneira a causar o menor nível de estresse possível nos animais. Em ambos os grupos foram realizadas 6 aplicações na porção média da região posterior do músculo masseter bilateralmente.

A porção média da região posterior do músculo masseter foi escolhida devido ao grande número de fibras em relação à espessura deste músculo, para fácil identificação e principalmente pelo espalhamento do laser no tecido muscular. Como esse animal experimental tem um músculo pequeno, um único ponto de aplicação foi selecionado. Isso é importante porque a área de aplicação local é quase do tamanho da área de superfície do músculo.

As irradiações aconteceram em dias alternados (aos 22, 24, 26, 28, 30 e 32 dias de idade), com densidade de energia equivalente a 3 J/cm^2 ($1,01 \text{ mW/cm}^2$ de potência, 30 segundos), de forma bilateral no músculo masseter em cada ponto, totalizando 6 J por sessão em cada animal. No dia anterior à primeira aplicação, o pelo do animal referente à região do músculo masseter, foi retirado com auxílio do kit de navalhas (KISS NY), deixando a pele livre da presença de pelos, visando minimizar a refração da luz na aplicação do laser na região (Figura 5A). O procedimento foi repetido caso houvesse a percepção do aumento de pelos na região (Figura 5B).



(A)



(B)

Figura 05: (A) Raspagem do pelo do animal referente à região do músculo masseter. Foi utilizado o kit de navalhas (KISS NY), (B) Animal contido pelo pesquisador. 24h antes da primeira aplicação da TFBM, foi realizada a raspagem da região do músculo masseter, com auxílio do kit de navalhas (KISS NY).

A aplicação do laser foi realizada por fonoaudióloga habilitada, treinada e sem conhecimento a respeito da identificação de cada tipo de laser, bem como, todos os demais integrantes do grupo que auxiliaram na realização desta etapa. Os animais foram contidos de forma a minimizar o estresse nos animais, por um aplicador, deixando a região de face livre para realização do laser. O segundo aplicador foi responsável pela condução do laser no músculo.

A técnica de aplicação utilizada foi de contato pontual, com leve compressão e ângulo de incidência de 90° em relação ao tecido alvo (Figura 6). O aparelho placebo possui a mesma aparência externa do aparelho ativo de TFBM, mas sem qualquer emissão de dose terapêutica. O aparelho emitia luz, mas sem dose terapêutica, totalizando o valor de 0 J no modo placebo.



(a)



(b)

Figura 06: (a) e (b): Animal contido pelo pesquisador. O segundo pesquisador (habilitado) realiza a aplicação da terapia de fotobiomodulação, utilizando a técnica de aplicação de contato pontual, com leve compressão e ângulo de incidência de 90° em relação ao tecido alvo.

As informações completas do aparelho e os cálculos de dosimetria utilizados encontram-se no Tabela 1.

Potência do Aparelho (mW)	100 ± 20%
Comprimento de onda (nm)	808 ± 10
Diâmetro do feixe (mm)	3.54
Área do feixe (cm ²)	0,09842 (ajustado já com espaçador)
Energia por ponto (J)	3J
Densidade de energia por ponto (J/cm ²)	30,48
Modo de Emissão	Contínua
Tempo de Irradiação por ponto (s)	30
Total de pontos	2 pontos
Energia Total (J)	6 (por sessão)
Densidade de Potência (W/cm ²)	1,01
Quantidade de sessões	6
Método de Irradiação	Ponteira em contato e pontual. Ângulo de incidência de 90° em relação a estrutura tratada.

Tabela 1: Informações complementares referentes ao aparelho e os cálculos de dosimetria utilizados.

Análise do Peso Corporal:

O peso corporal (em gramas) foi mensurado durante o período de aleitamento (aos 7, 14 e 21 dias de idade) (C, n=17; RN, n=15) e aos 35 dias de idade (C/L1, n=10; C/L2, n=7; RN/L1, n=7; RN/L2, n=8).

Para mensuração do peso corporal, foi utilizada uma balança eletrônica digital com acurácia de 1 grama (Marte®). (PLAGEMANN et al., 2010).

Análise dos movimentos mandibulares mastigatórios:

Aos 35 dias de idade o desempenho mastigatório foi avaliado pelos movimentos mandibulares durante a mastigação (FERRAZ-PEREIRA et al., 2015; LACERDA et al., 2017).

Inicialmente os animais foram submetidos a um período de três horas de privação alimentar (9:00 às 12:00 hs). Em seguida (das 12:00 às 13:00 hs), os animais foram alocados individualmente em uma gaiola de acrílico transparente, e filmados (por 15 minutos cada) com câmera DCR-DVD610 – Sony, a uma distância padronizada de 75cm entre a câmera e gaiola. Todos os animais foram filmados em ciclo escuro, devido ser o período de maior atividade alimentar (Figura 7).

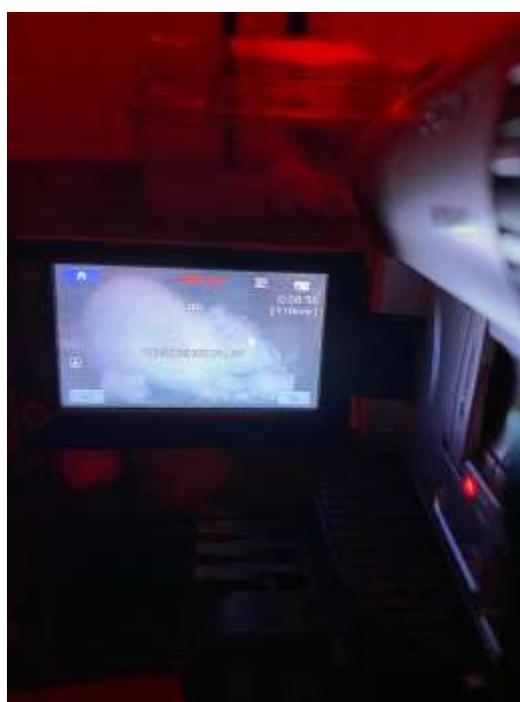


Figura 07: Animais alocados individualmente em uma gaiola de acrílico transparente, e filmados (por 15 minutos cada) com câmera DCR-DVD610 – Sony. Todos os animais foram filmados em ciclo escuro, devido ser o período de maior atividade alimentar.

Antes de iniciar as filmagens, trinta gramas da dieta padrão usada, foi ofertada para cada animal dentro da gaiola em forma de pellets e, após o teste, o alimento foi pesado novamente. Dessa forma, o consumo alimentar foi obtido pela diferença entre o peso do alimento antes e após o teste. Além disso, foi mensurado o consumo alimentar relativo ao tempo de alimentação.

A partir da análise dos vídeos, foram quantificados os seguintes parâmetros (Adaptado de LACERDA, et al., 2017. FERRAZ-PEREIRA, et al., 2015):

Número de sequência mastigatória: Quantificação dos movimentos mastigatórios realizados. É iniciado a partir da incisão do alimento, realização dos movimentos de mastigação e finaliza com a deglutição do alimento;

Número de ciclos mastigatórios: Composto pela abertura e fechamento da mandíbula, para a realização de uma deglutição;

Duração da fase mastigatória: Tempo necessário para a realização dos grupos de ciclos mastigatórios;

Taxa mastigatória: composto pelo número de ciclos por minuto (diferença da quantidade de ciclos mastigatórios pela duração).

Para garantir a confiabilidade das análises, os vídeos foram analisados e quantificados por dois avaliadores treinados e cegos para o conhecimento de qual grupo experimental pertencia cada animal. Esta estratégia foi realizada com o objetivo de minimizar o risco de viés na mensuração dos resultados.

Avaliação da Temperatura em termografia do músculo masseter durante o repouso antes do sacrifício:

Aos 35 dias de idade os grupos Controle/L1 (n=10) e Controle/L2 (n=7), constituído por uma ninhada com 9 filhotes por nutriz e, RN/L1 (n=7) e RN/L2 (n=8), foram submetidos a análise da temperatura da pele em termografia do músculo masseter em repouso por meio de máquina fotográfica termográfica FLIR C2.

Os animais foram alocados individualmente em uma gaiola em uma sala climatizada com ar-condicionado e lâmpadas fluorescentes em ciclo claro do biotério, com temperatura controlada entre 20°C e 23°C, permanecendo nesse local por cerca de 15min, período este de adaptação.

Após isso, o animal foi contido de forma humanizada por um aplicador, deixando a região de face livre para realização da captura da imagem. O segundo aplicador foi responsável pela condução da câmera termográfica.

O termograma foi realizado com a câmera posicionada a direita da face do animal, realizando a captura do masseter de forma centralizada. Foram realizadas três capturas de

imagens, visando a seleção da melhor imagem para a análise do termograma. A câmera foi ajustada há 19 cm de distância do animal, com foco automático.

A análise foi realizada por meio do software FLIRTools+, onde a área do masseter foi selecionada por meio de círculo, utilizando a medição de elipse, tendo como pontos de referência de forma superior o ponto anterior do olho direito, ponto anterior do canal auditivo direito e de forma inferior o ângulo da mandíbula. A temperatura média da região selecionada era apresentada em graus célsius (Figura 8). Para os resultados, foi levado em consideração a diferença de temperatura média dos masseteres direitos.

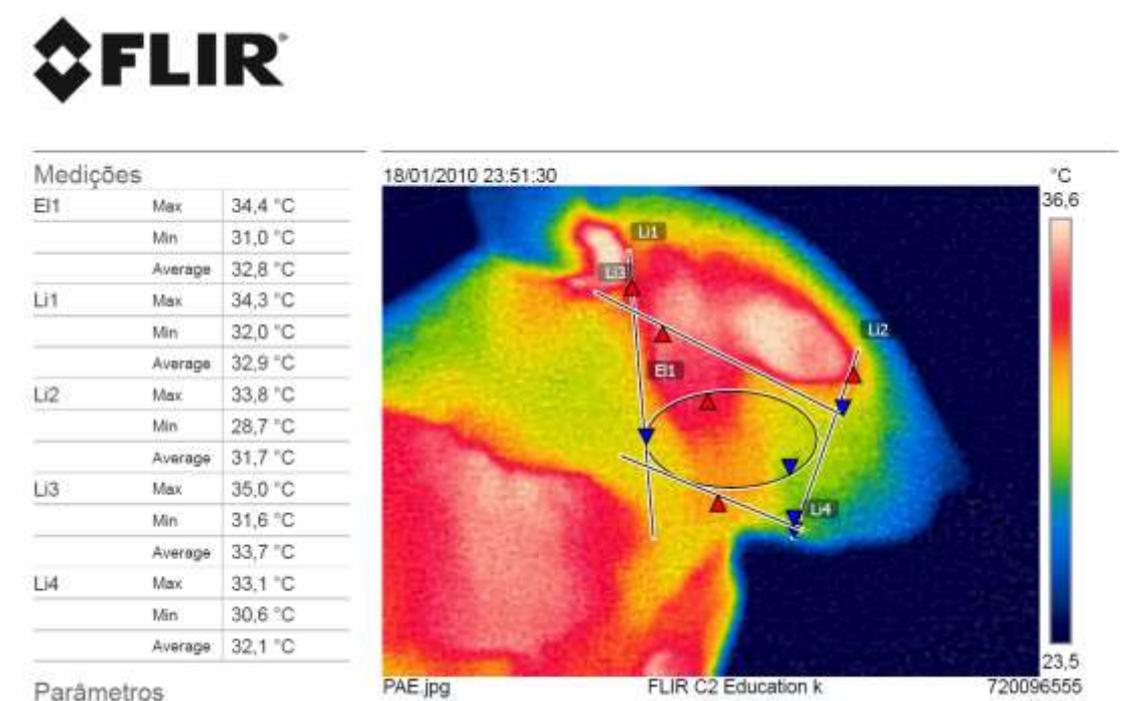


Figura 08: Termograma realizado software FLIRTools+. Estão marcadas a área do masseter, selecionada por meio de círculo, utilizando a medição de elipse, tendo como pontos de referência de forma superior o ponto anterior do olho direito, ponto anterior do canal auditivo direito e de forma inferior o ângulo da mandíbula. Como resultado é possível encontrar a temperatura média da região selecionada, apresentada em graus célsius.

Avaliação do Peso do Feixe Superficial do Músculo Masseter:

No 35º dia de vida pós-natal, os animais (Controle/L1 (n=10), Controle/L2 (n=7), RN/L1 (n=7) e RN/L2 (n=8), foram sacrificados por decapitação.

O feixe superficial do músculo masseter foi dissecado e imediatamente pesado (Figura 9).

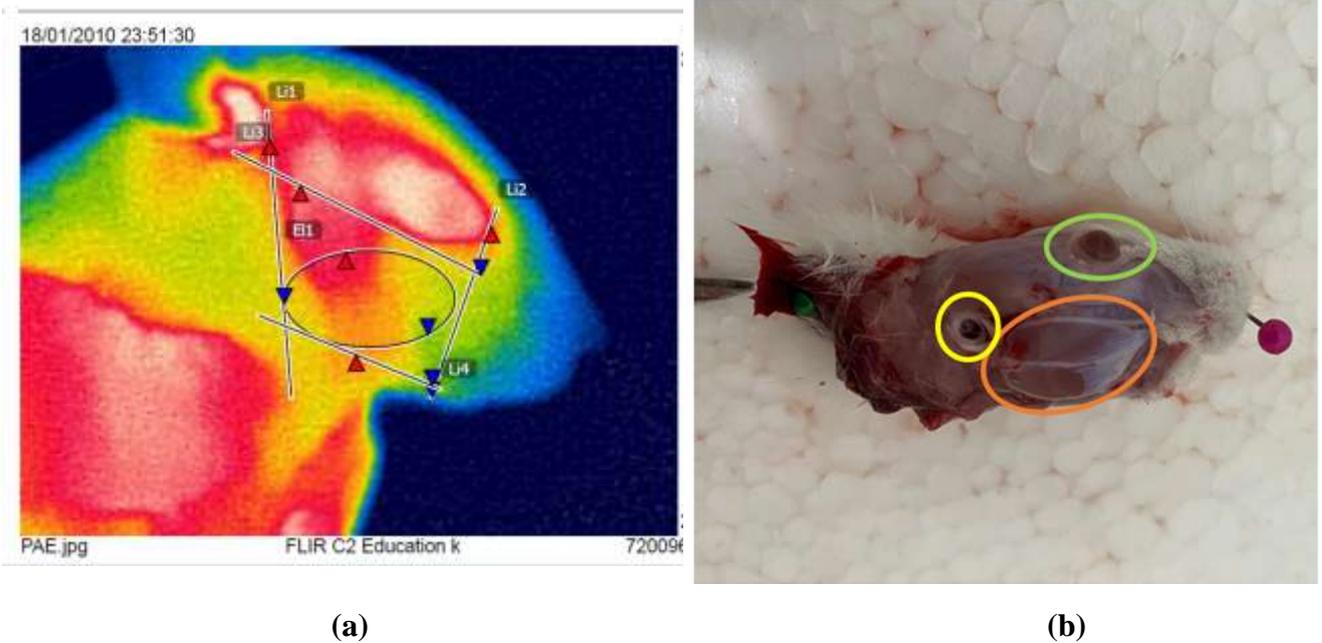


Figura 09: (a) Termograma realizado software FLIRTools+. Estão marcadas a área do masseter, selecionada por meio de círculo, utilizando a medição de elipse, tendo como pontos de referência de forma superior o ponto anterior do olho direito (seta amarela), ponto anterior do canal auditivo direito (seta branca) e de forma inferior o ângulo da mandíbula (seta laranja). (b) Animal (rato) dissecado. É possível visualizar a hemiface direita do animal, com visualização do feixe superficial do músculo masseter direito (circulado em laranja), localizado entre o conduto auditivo (círculo amarelo) e abaixo do globo ocular (circulado em verde).

Análise dos dados:

A descrição das variáveis numéricas será realizada por meio de média e desvio padrão, mediana e intervalo de confiança.

Para comparação de médias entre os grupos, foi realizado o teste ANOVA two-way medidas repetidas e pós-teste de *Tukey* para análise de peso corporal e consumo alimentar e ANOVA two-way e pós-teste de *Tukey* para os demais parâmetros.

Será estabelecido com o nível de significância estatística o valor de $p \leq 0,05$. As análises serão feitas nos programas GraphPad Prism 6.

5. RESULTADOS:

Como resultado da pesquisa foi desenvolvido um artigo de revisão sistemática e um artigo original.

A revisão intitulada “Effects of photobiomodulation therapy on skeletal muscles in experimental models: a systematic review” foi submetida a revista Lasers in Medical Science, e encontra-se em processo de análise. Apresenta qualis: A2 e fator de impacto: 2,555

Já o artigo original, intitulado “Is photobiomodulation therapy capable of reversing the damages in mastication performance in an experimental model of obesity?” foi submetido à revista British Journal of Nutrition. O qual, apresenta qualis A1 e fator de impacto de 4,125 e encontra-se em processo de análise.

5.1. ARTIGO 1:

TITLE: Effects of photobiomodulation therapy on skeletal muscles in experimental models: a systematic review

AUTHORS: Nilian Cerqueira Azevêdo^A; Hilton Justino da Silva^{A,B}; Maria Caroline Barbosa do Monte Silva^C; Celiane de Farias^A; Renata Emmanuele Assunção Santos^D; Diogo Antonio Alves de Vasconcelos^C; Raquel da Silva Aragão^C; Kelli Nogueira Ferraz-Pereira^{A,B}

AFFILIATIONS:

^A Graduate Program in Human Communication Health - PPGSCH – UFPE Recife, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^B Department of Speech Therapy, Federal University of Pernambuco, Campus Recife, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^C Graduate Program in Nutrition. Federal University of Pernambuco -UFPE, Campus Recife, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^D Graduate Program in Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity. Federal University of Pernambuco – Academic Center of Vitória

CORRESPONDENCE TO:

Kelli Nogueira Ferraz-Pereira. Federal University of Pernambuco, Academic Center of Vitoria. Vitória de Santo Antão, PE, Brazil; CEP: 55608-680; Phone number: +55 81 998259212. E-mail: kelli.pereira@ufpe.br.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Photobiomodulation (PBM) has been used for several therapeutic purposes. The effectiveness of the therapeutic process is related to the adequacy of dosimetric parameters in the treatment. **OBJECTIVES:** To delineate the effects of PBM therapy on skeletal muscle in experimental models. **METHODS:** Articles published until February/2023 in the LILACS, Web of Science, SCOPUS and PubMed/MEDLINE databases that evaluated the effects of PBM therapy on skeletal muscle in experimental models. **RESULTS:** The results demonstrate a wide use of PBM for various therapeutic purposes, addressing: muscle repair, muscle performance, anti-inflammatory action and molecular aspects. However, the diversity of protocols was used, with non-standard dosimetry. **CONCLUSION:** PBM therapy proved to be effective in different types of skeletal muscles, albeit using a wide range of dosimetric parameters. Therefore, more research is needed to standardize these tools, aiming at better replication and generalization.

KEYWORDS: Models Animal; Photobiomodulation therapy; Low-Level Light Therapy; Skeletal, Muscle; Masseter Muscle; Rats.

INTRODUCTION

Photobiomodulation (PBM) has been increasingly used with different treatment objectives in recent years. It is characterized by the use of lasers (light amplification by stimulated emission of light) and LEDs (light-emitting diode) ^(1,2), with monochromatic lights that penetrate different types of tissues and are absorbed by the muscles, promoting beneficial changes at the cellular, molecular and muscular level, consequently generating therapeutic effects for the individual ⁽³⁾.

It is possible to find in the literature numerous benefits related to PBM use associated with increased mitochondrial respiration ⁽⁴⁾, wound healing, tissue fibrosis ^(5,6,7), as a post-injury anti-inflammatory agent, and myofascial pain analgesia. In addition, it improves muscle regeneration by stimulating the proliferation of muscle cells and satellite cells, intensifying the synthesis of myoblast proteins, and increasing muscle fiber areas and mitochondrial density ^(1, 2, 8, 9).

The literature discusses PBM application with beneficial effects on muscular aspects – especially skeletal muscles, which are widely distributed in the body. Studies use PBM therapy either in experimental models or humans to improve their performance in general or specifically locomotion and metabolism ^(10,11,12). Its use generates stimulatory and inhibitory effects at biological and cellular levels, depending on the protocol used ⁽⁸⁾.

However, the effectiveness of the PBM therapeutic process is closely related to the adequate application of treatment parameters for a given intervention ⁽¹³⁾. Therefore, adequate dosimetry values – e.g., device power, wavelength, beam diameter, beam area, energy per point and total energy, emission mode, irradiation time, power density, and quantity of applications – are of fundamental importance. Special attention must be paid to not applying too much or too little energy for a given intervention, approaching the right anatomical site, adequate treatment, and medication concomitantly with PBM treatment ⁽¹³⁾.

Given this context, we conducted a systematic review of the literature to outline the effects of PBM therapy on skeletal muscles in experimental models.

MATERIALS AND METHODS:

This systematic review was performed according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses (PRISMA). Our review was performed using a protocol submitted to the International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) and published under the registration number: CRD42022322793.

RESEARCH STRATEGY:

Articles were actively searched and selected by two independent reviewers (Azevêdo, N. C. and Silva, M. C. B. M.) between July 2022 and February 2023 in the databases of LILACS (Latin-American and Caribbean Health Sciences Literature), Web of Science, SCOPUS, and PubMed (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online).

The search in the databases used the following MeSH terms (Medical Subject Headings): Models Animal; Photobiomodulation therapy; Low-Level Light Therapy; Skeletal, Muscle; Masseter Muscle; Rats; as well as their variations. Duplicates were removed from among the articles retrieved through a database search.

Articles were initially selected by reading their titles and abstracts and then their full text, considering them for eligibility according to the pre-established inclusion/exclusion criteria and based on the pre-defined protocols (FIGURE 1).

INCLUSION AND EXCLUSION CRITERIA

The review included experimental studies that evaluated the effects of PBM therapy on the skeletal muscles of laboratory animals (rodents), as well as the protocols used for such intervention.

Studies performed in humans and those that did not address the intervention of PBM therapy in skeletal muscles were excluded. There was no restriction on year or language for the inclusion of studies. Articles that did not meet the population and intervention eligibility criteria were excluded.

The main data were collected and tabulated in Excel 2021 spreadsheets, as follows: authors' names, year of publication, PBM protocol used, muscle in which it was applied, intervention period, and main results. The data were transcribed into a table according to the outcomes.

ASSESSMENT OF ARTICLES

The methodological quality and the risk of bias of the studies included in this systematic review were analyzed by two independent reviewers, using the SYRCLE risk of bias (RoB) tool (HOOIJMANS et al., 2014) individually in the selected articles. This tool consists of 10 questions related to six types of bias: selection bias, performance bias, detection bias, attrition bias, reporting bias, and other biases.

All questions were judged as having high risk, uncertain risk, or low risk of bias. Information regarding this analysis is summarized in Figure 1. The level of agreement between reviewers was analyzed using Kappa statistics in the Statistical Package for the Social Sciences – SPSS, version 20 for Windows (IBM SPSS Software, Armonk, NY, USA). Information relevant to this step was synthesized in a figure developed in the Review Manager software, version 5.3 – which was also used to prepare the study flowchart (FIGURE 1).

	Sequence generation (Selection bias)	Baseline characteristics (Selection bias)	Allocation concealment (Selection bias)	Random housing (Performance bias)	Blinding (Performance bias)	Random outcome assessment (Detection bias)	Blinding (Detection bias)	Incomplete outcome data (Attrition bias)	Selective outcome reporting (Reporting bias)	Other sources of bias (Other)
Assis et al., 2016	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
França et al., 2012	?	+	+	+	?	+	?	+	+	+
Lakyová et al., 2010	+	+	+	?	?	+	?	+	+	+
Liu et al., 2009	+	+	+	+	?	+	+	+	+	+
Lyomasa et al., 2013	+	+	+	+	?	+	?	+	+	+
Moreira et al., 2011	?	+	+	+	?	+	?	+	+	+
Neves et al., 2020	+	+	+	+	?	+	?	+	+	+
Silveira et al., 2012	+	?	?	?	?	?	?	+	+	+
Tomazoni et al., 2020	+	+	+	+	+	?	+	+	+	+
Kou et al., 2019	?	?	+	+	?	+	?	+	+	+

Legend: + Yes - No ? Partial

Figure 1: Risk of bias summary: review authors' judgments about each risk of bias item for each included study.

RESULTS

The first step consisted of searching the electronic databases (LILACS, Web of Science, SCOPUS, and PubMed), thus identifying a total of 244 articles. Subsequently, the 186 duplicates were removed, resulting in 58 articles, which were separated for the title and abstract reading, of which 38 articles were eliminated for not addressing the eligibility criteria (Figure 2) in the title and abstract. Reading the full text was the last stage of analysis, which included 20 articles; then, 10 articles were excluded based on the exclusion criteria, resulting in a sample of 10 articles included for analysis, as shown in the flowchart in Figure 1. We found nine articles published in English and one in Portuguese. The steps of the survey are described in the flowchart below.

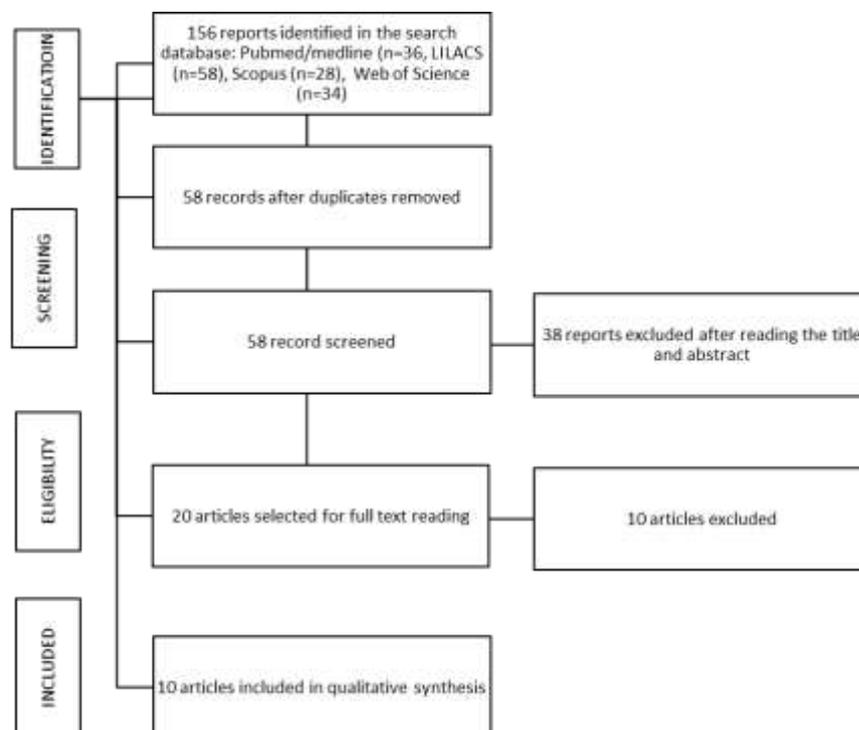


Figure 2: Article selection scheme

ASSESSMENT OF THE QUALITY OF THE ARTICLES

Figure 1 shows the evaluation of the articles according to the points highlighted by Hooijman and collaborators⁽¹⁴⁾. The evaluation of quality criteria revealed methodological gaps in some articles, including a lack of information regarding the location of groups^(3,15,16), incomplete information regarding specific criteria for randomization of groups^(3,17,18), a lack of information on blinding during the intervention^(3,15, 16, 17, 18, 19, 20; 21), a lack of information regarding blinding during assessment^(3,15, 16, 18, 20, 21), and a lack of complete data on results⁽³⁾.

The reviewers' RoB evaluation resulted in Kappa = 0.91, classified as an almost perfect level of agreement.

CHARACTERIZATION OF THE STUDIES

• PBM PROTOCOL:

The articles had various objectives, ranging from the results of muscle repair and muscle performance parameters to anti-inflammatory action and molecular-related aspects. They also used a wide range of protocols with unstandardized dosimetry, despite similar objectives, making it difficult to compare studies. Hence, to explain the results in a more didactic way, they were grouped according to the objectives.

The studies by Kou (2019), Tomazoni (2020), França (2012), Silveira (2012), and Neves (2020) analyzed the effects of PBM on muscle repair and performance (TABLE 1). The authors presented the use of an infrared laser as a common point, with a wavelength between 780 nm and 905 nm. However, there was no consensus on the parameters related to energy density, power, and application time, varying from single applications⁽¹⁷⁾ to different times and numbers of applications^(3,15, 17, 21, 22).

Concerning the findings on muscle repair and anti-inflammatory action, there was no standardization in the type of wavelength (TABLE 2). Some studies used only red wavelengths⁽¹⁹⁾, while others associated red and infrared wavelengths^(20, 23) or two different infrared wavelengths for the same treatment⁽¹⁶⁾.

In addition, it was possible to observe a high disparity regarding the power used, ranging from 30mW⁽²³⁾ to 70mW⁽¹⁶⁾, with dosages from 1J/cm²⁽²⁰⁾ to 43J/cm²⁽¹⁹⁾. Moreover, there were divergences in dosimetric data chosen for the same therapeutic objective (TABLE 2).

Only one study analyzed the effects of PBM therapy on molecular aspects⁽²⁰⁾, making it impossible to compare it with other studies (TABLE 3). However, in his study, Lyomasa (2013) used infrared wavelength with three different application protocols: three, six, and ten

days of applications on alternate days. As a result, he observed better responses when using the six-application protocol, emphasizing the importance of a good delimitation of dosimetric protocols to obtain effective results.

- **APPLIED MUSCLE**

The skeletal muscles most frequently analyzed in the articles were the tibialis anterior muscle (n=5), gastrocnemius muscle (n=3), gracilis muscle (n=1), and masseter muscle (n=1). It was possible to observe that most of the articles (n=9) aim to analyze the skeletal muscles associated with locomotion movement. Only one article used the masseter to analyze the skeletal muscles with a different objective, associating the masticatory function.

- **APPLICATION PERIOD:**

There was no agreement between the periods of PBM therapy application. Some authors applied the therapy immediately after the injury ⁽³⁾, and others started a few hours after the injury ^(15, 16, 17). Some started the application after performing the exercise [19] or at different ages of the animals, in weeks ^(20, 20, 21, 22, 23).

- **ANALYSIS PERIOD:**

It was possible to observe variability regarding the period of analysis. Some studies performed the analysis within 72 hours after the last treatment application ^(17, 19, 20, 22). Others, such as Kou (2019), França (2012), Assis (2016), and Lakyová (2010), performed the analyses at different stages, such as one week after muscle damage or after the last application of PBM treatment. Only one of the studies did not specify the period in which the analyses were carried out ⁽¹⁶⁾.

RESULTS:

The articles analyzed had different proposals, but always focused on muscular aspects. Even with the divergences found in their studies, Kou (2019), Tomazoni (2020), França (2012), and Silveira (2012) obtained positive results in the application of PBM therapy, delaying the progression of muscle atrophy and repairing muscles. On the other hand, Neves (2020) did not observe improvements in PBM use in the evaluated morphological and functional aspects (TABLE 1).

Tomazoni et al. (2020) analyzed the effects of PBM therapy and pharmacological therapy (glucocorticoids and non-steroidal anti-inflammatory drugs) in preserving the progression of skeletal muscle deficiencies in mice. As a result, it was observed that the treatments applied either alone or in combination effectively preserved muscle morphology. However, regarding functional performance, PBM therapy showed better results in relation to glucocorticoids.

Another aspect often found in our search concerns the effects of PBM therapy also associated with muscle anti-inflammatory action. Assis et al. (2016) found a direct relationship between the use of infrared laser and the promotion of skeletal muscle repair, favoring myogenesis and angiogenesis, with consequent reduction of the inflammatory process (TABLE 2).

Lakyová (2010) and Liu (2009) also found similar results, in which it was possible to observe a reduction in the amount of necrotic tissue and muscle atrophy, improving the inflammatory reaction, facilitating angiogenesis, and increasing the antioxidant capacity of the muscle (TABLE 2).

Only one article aimed to analyze the effects of using PBM therapy on musculature at a biological level ⁽²⁰⁾. Lyomasa (2013) analyzed different irradiation protocols and obtained an improvement in the ultrastructural and molecular effects on the metabolic activity of the masseter muscle (TABLE 3).

DISCUSSION

The main objective of this review was to evaluate the effects of PBM therapy on skeletal muscles in experimental models. PBM has been widely used in recent years, with undeniable benefits for the different types of interventions and proposed therapeutic objectives. The present study observed beneficial responses to PBM therapy with different objectives, regarding muscle repair and performance, anti-inflammatory action, or molecular-related issues.

Its use has been found with extensive documentation in the literature, highlighting the clinical findings in the different areas of applicability. However, there has also been a growing use in the literature of experimental trials with rodents, contributing in a beneficial way to the discovery of treatments, interventions, and prophylactic measures that also affect humans (24, 25).

This assumption indicates the importance of the applicability and emphasis on the use of the translational research approach in this type of intervention. Characterized by the realization of knowledge bidirectionally, translational research refers to the existence of the application of the findings of laboratory research for the development of clinical trials, thus reflecting benefits for human health (25).

Regarding clinical findings, the literature has already shown great use of PBM therapy in different areas of activity, especially in the areas of physiotherapy, nursing, physical education, and speech therapy, with effective results in its intervention. However, it is still possible to observe a wide variety and divergence of intervention protocols in both clinical and experimental applications, with the same objective – similar to what was found in the present research.

Although it is possible to find positive results in most of the analyzed studies, a divergence in dosimetry values was observed in protocol analysis. Studies with similar objectives presented different dosimetric values, with no systematization and standardization of wavelengths, power, energy density, or time.

In this sense, the importance of using a translational approach is once again evident, to standardize the protocols used in the different areas of intervention, reflecting on its generalization and greater ease of replication in different contexts.

Tomazoni (2020), Neves (2020), Kou (2019), Silveira (2012), and França (2012) presented similar therapeutic objectives and muscle analyses. However, it was possible to observe variability in their protocols. Although they used similar wavelengths (infrared), there

was considerable variability in the other dosimetric data presented, with powers, dosages, and time, varying by up to two times more or less than the value. In these studies, it was possible to observe effective therapeutic objectives in four of the five articles analyzed^(3,15,17,22).

Neves (2020), on the other hand, did not obtain effective responses in either of its two proposed objectives, although two different types of wavelengths were used. Similarly, Tsuk (2020) analyzed the influence of PBM on muscle performance responses and muscle repair after resistance exercise in humans with an infrared laser.

Other studies in the literature have a similar approach, using two types of lasers (red and infrared), though with positive results for improving muscle performance and skeletal muscle fatigue⁽²⁷⁾. The importance of delimiting dosimetric data to satisfactorily reach objectives becomes evident.

In the studies by Assis (2016), Lakyová (2010), Liu (2009), and Moreira (2011), the variation in dosimetric data was even greater, with no consensus on the type of wavelength, dosages, and time. The power density ranged from 4mW/cm² to 40mW/cm², making it difficult to define the density that should be used due to its wide variability.

The same difficulty concerns wavelength. Assis et al. (2016) compared the different types of waves and obtained the best responses with an infrared laser, which favored myogenesis, angiogenesis, and reduction of the inflammatory process. Lakyová (2010) and Liu (2009), on the other hand, obtained positive responses to the same objectives using a red laser. Moreira et al. (2011) found no difference associating two different infrared wavelengths, making it difficult to identify which parameters are effective to obtain these results.

This can also be seen in the study by Lyomasa (2013). Their study compared the application of three different protocols on the amount of irradiation. As a result, better responses were found with six applications. The authors also highlight the negative effects of using ten applications, with a decrease in metabolic activity and damage to the angiogenic process, reinforcing the importance of a well-established protocol with well-defined dosimetric data for the effective performance of PBM.

In addition, the period of application of the PBM therapy and the period of analysis of the musculature greatly varied in all analyzed articles. In some cases, the data were presented immediately after the trauma/exercise, while in others, a few hours after the performance. It was still possible to observe a lack of specification of dosimetric data, making it even more unfeasible to replicate the experiment.

Another limitation found refers to the little diversity in the areas of studies related to skeletal muscles. Although the skeletal musculature presents a vast composition in the body, constituting about 40-50% of the total body weight ^(4,5), the present study observed a focus on research related to the motor action of locomotion, with few experimental studies related to metabolism and mastication.

Such findings result in a still existing gap in the scope of experimental studies focused on these aspects, requiring further research on these functions – unlike what can be seen in the clinical area, where speech therapy and dentistry have an increasing amount of research in head and neck rehabilitation associated with the use of PBM therapy.

CONCLUSION:

Despite the effectiveness of PBM therapy on the different types of skeletal muscles in animal models, it was possible to observe great variability in dosimetric parameters, making it impossible to compare data. Thus, the replication of experiments by third parties is limited, considering that studies that used the same objective presented different dosimetric information, evidencing the non-standardization of the protocols they used. Therefore, there is a need for further research to standardize these tools for better replication and generalization.

ACKNOWLEDGEMENTS:

We would like to thank the Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco – FACEPE.

REFERENCES

- [1] DE BRITO BITENCOURT, et al. Administration of low-level laser on muscles of mastication following the induction of initial fatigue: protocol for a randomized, controlled. Clinical trial. *Medicine*. V.97, n.26, e11340, jun. 2018. Doi: 10.1097/MD.00000000000011340.
- [2] FERREIRA, Sara Loureiro de Souza et al. The use of photobiomodulation for the muscles of head and neck: an integrative review. *Audiology-Communication Research*, v. 26, e2552, feb. 2022. Doi:10.1590/2317-6431-2021-2552
- [3] KOU, Y. T., LIU, H. T., HOU, C. Y., LIN, C. Y., TSAI, C. M., & CHANG, H. A transient protective effect of low-level laser irradiation against disuse-induced atrophy of rats. (2019). *Lasers in medical science*, 34(9), 1829–1839. <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02778-5>
- [4] PASSARELLA S, CASAMASSIMA E, MOLINARI S, PASTORE D, QUAGLIARIELLO E, CATALANO IM, CINGOLANI A (1984) Aumento do potencial eletroquímico de prótons e síntese de ATP em mitocôndrias de fígado de rato irradiadas in vitro por laser de hélio-neon. *FEBS Lett* 175(1):95–99
- [5] ALVES AN, FERNANDES KP, MELO CA, YAMAGUCHI RY, FRANCA CM, TEIXEIRA DF, BUSSADORI SK, NUNES FD, MESQUITA-FERRARI RA (2014) Modulating effect of low level-laser therapy on fibrose in the repair process of the tibial anterior muscle em ratos. *Lasers Med Sci* 29(2):813–821
- [6] KAVIANI A, DJAVID GE, ATAIE-FASHTAMI L, FATEH M, GHODSI M, SALAMI M, ZAND N, KASHEF N, LARIJANI B (2011) A randomized clinical trial on the effect of low-level laser therapy on chronic diabetic foot wound healing: a preliminary report. *Photomed Laser Surg* 29:109–114
- [7] CARVALHO AFM, SOUSA PFB, FEITOSA MCP, NPMF COELHO, EML BARROS, VC FEITOSA, EAL ARISAWA. The low-level laser on acute myositis in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 30 (12) 2015*
- [8] HEISKANEN, V., & HAMBLIN, M. R. (2018). Correction: Photobiomodulation: lasers vs. Light emitting diodes?. *Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 18(1), 259. Advance online publication. <https://doi.org/10.1039/c8pp90049c>
- [9] HAMBLIN M. R. (2017). Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS biophysics*, 4(3), 337–361. <https://doi.org/10.3934/biophy.2017.3.337>
- [10] Oliveira, G.J.P.L., Aroni, M.A.T., Medeiros, M.C., Marcantonio, E., Jr and Marcantonio, R.A.C. (2018), Effect of low-level laser therapy on the healing of sites grafted with coagulum, deproteinized bovine bone, and biphasic ceramic made of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate. In vivo study in rats. *Lasers Surg. Med.*, 50: 651-660. <https://doi.org/10.1002/lsm.22787>
- [11] DOUGLAS CR. Fisiologia da mastigação. In: Douglas CR, organizador. *Tratado de fisiologia aplicada à fonoaudiologia* São Paulo: Robe Editorial; 2002. P. 345-68.
- [12] MATSAKAS, M.; PATEL, K. Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli. *Histol Histopathol*. V. 24, n.12, 611-629. 2009

- [13] HUANG, Y. Y., CHEN, A. C., CARROLL, J. D., & HAMBLIN, M. R. Biphasic dose response in low level light therapy (2009). *Dose-response : a publication of International Hormesis Society*, 7(4), 358–383. <https://doi.org/10.2203/dose-response.09-027>.
- [14] Hooijmans, C. R., Rovers, M. M., de Vries, R. B., Leenaars, M., Ritskes-Hoitinga, M., & Langendam, M. W. (2014). SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC medical research methodology*, 14, 43. <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>.
- [15] FRANÇA CM, DE LOURA SANTANA C, TAKAHASHI CB, ALVES AN, DE SOUZA MERNICK AP, FERNANDES KP, DE FÁTIMA TEIXEIRA DA SILVA D, BUSSADORI SK, MESQUITA-FERRARI RA. Effect of laser therapy on skeletal muscle repair process in diabetic rats. *Lasers Med Sci*. 2013 Sep;28(5):1331-8. Doi: 10.1007/s10103-012-1249-2. Epub 2012 Dec 22. PMID: 23262549.
- [16] Moreira, F. F., Oliveira, E. L. P. de ., Barbosa, F. S., & Silva, J. G.. (2011). Laserterapia de baixa intensidade na expressão de colágeno após lesão muscular cirúrgica. *Fisioterapia E Pesquisa*, 18(Fisioter. Pesqui., 2011 18(1)). <https://doi.org/10.1590/S1809-29502011000100007>
- [17] SILVEIRA, P.C.L., DA SILVA, L.A., PINHO, C.A. ET AL. Effects of low-level laser therapy (gaas) in an animal model of muscular damage induced by trauma. *Lasers Med Sci* 28, 431–436 (2013). <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1075-6>
- [18] LAKYOVÁ L, TOPORCER T, TOMEČKOVÁ V, SABO J, RADOŇAK J. Low-level laser therapy for protection against skeletal muscle damage after ischemia-reperfusion injury in rat hindlimbs. *Lasers Surg Med*. 2010 Nov;42(9):665-72. Doi: 10.1002/lsm.20967. PMID: 20976806.
- [19] LIU XG, ZHOU YJ, LIU TC, YUAN JQ. Effects of low-level laser irradiation on rat skeletal muscle injury after eccentric exercise. *Photomed Laser Surg*. 2009 Dec;27(6):863-9. Doi: 10.1089/pho.2008.2443. PMID: 19697999.
- [20] LYOMASA MM, RIZZI EC, LEÃO JC, ISSA JP, DIAS FJ, PEREIRA YC, FONSECA MJ, VICENTINI FT, WATANABE IS. Zymographic and ultrastructural evaluations after low-level laser irradiation on masseter muscle of HRS/J strain mice. *Lasers Med Sci*. 2013 May;28(3):777-83. Doi: 10.1007/s10103-012-1156-6. Epub 2012 Jul 14. PMID: 22797825.
- [21] Neves, M., Tavares, A. L. F., Reginato, A., Kakihata, C. M. M., Bertolini, G. R. F., & Ribeiro, L. F. C. (2020). Low-Level Laser Therapy in Different Wavelengths on the Tibialis Anterior Muscle of Wistar Rats After Nerve Compression Injury. *Journal of manipulative and physiological therapeutics*, 43(7), 700–707. <https://doi.org/10.1016/j.jmpt.2019.05.012>
- [22] TOMAZONI SS, CASALECHI HL, FERREIRA CSB, SERRA AJ, DELLÊ H, BRITO RBO, DE MELO BL, VANIN AA, RIBEIRO NF, PEREIRA AL, MONTEIRO KKDS, MARCOS RL, DE CARVALHO PTC, FRIGO L, LEAL-JUNIOR ECP. Can photobiomodulation therapy be an alternative to pharmacological therapies in decreasing the progression of skeletal muscle impairments of mdx mice? *PLoS One*. 2020 Aug 12;15(8):e0236689. doi: 10.1371/journal.pone.0236689. PMID: 32785240; PMCID: PMC7423120.
- [23] ASSIS L, MANIS C, FERNANDES KR, CABRAL D, MAGRI A, VERONEZ S, RENNO AC. Investigation of the Comparative Effects of Red and Infrared Laser Therapy on Skeletal Muscle Repair in Diabetic Rats. *Am J Phys Med Rehabil*. 2016 Jul;95(7):525-34. Doi: 10.1097/PHM.0000000000000431. PMID: 26829073.
- [24] CHORILLI, M.; MICHELIN, D.C.; SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 28, n.1, p.11-23, 2007 ISSN 1808-4532

[25] Cabral Filho JE et al. Pesquisa Translacional e a importância da sua difusão. Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife, 13 (4): 293-296 out. / dez., 2013

[26] Tsuk, S., Lev, Y. H., Fox, O., Carasso, R., Dunsky, A. Does Photobiomodulation Therapy Enhance Maximal Muscle Strength and Muscle Recovery? Journal of Human Kinetics volume 73/2020, 135-144 DOI: 10.2478/hukin-2019-0138 Section II - Exercise Physiology & Sports Medicine

[27] Almeida, P. et al. Red (660 nm) and infrared (830 nm) low-level laser therapy in skeletal muscle fatigue in humans: what is better? Lasers Med Sci (2012) 27:453–458.

table 1: Effect of TFBM on muscle repair and muscle performance in skeletal muscles in an experimental model

MUSCLE REPAIR + MUSCLE PERFORMANCE	REFERENCE	PHOTOBIO-MODULATION PROTOCOL	MSC. APPLIED	APPLICATION PERIOD	ANALYSIS PERIOD	RESULTS
	Tomazoni et al., 2020	BRAND: Multi Radiance Medical - LENGTH: 905nm - POWER: 25mW - DENSITY: 0.048J/cm ² - TIME: 3x a week on alternate days, for 14 consecutive weeks	Anterior tibial muscle (bilaterally)	From the 6th week of age, for 14 consecutive weeks.	20th week of age, 24 hours after the last application.	- Isolated or combined treatments were effective in preserving muscle morphology. - Better results in functional performance associated with the use of laser therapy
	Neves et al., 2020	BRAND: lbramed - LENGTH: 660 nm and 830 nm - POWER: 30 mW - DENSITY: 10J/cm ² - TIME: 20s/ 40s. 2 x weeks, totaling 10 applications at the surgical site	Tibialis anterior muscle	10 weeks old	The analysis was performed before and after the nerve injury and during treatment.	- Result was ineffective for recovering the characteristics investigated in the anterior tibial muscle tissue. - PBM did not promote improvement in the morphological and functional aspects evaluated.
	Kou et al, 2019	BRAND: Ga-Al-As - LENGTH: 808 nm - POWER: 27.79 mW/cm ² - DENSITY: 83.37, 195.30, 277.90, and 416.85 J/cm ² , respectively. - TIME: 3 s (0.07 J/day), 7 s (0.2 J/day), 10 s (0.29 J/day), and 15 s (4.3 J/day), respectively.	Tibialis anterior muscle	The irradiations were performed immediately after the damage (disuse) and once a day for 7, 14, and 21 consecutive days before the evaluation.	1, 2, and 3 weeks after the damage	- Increased proliferation of PAX7 + AC17ve cells - Delayed atrophy progression, preserving muscle mass

	<p>França et al., 2012</p>	<p>BRAND: MMOptics -LENGTH: 780 nm - POWER: 20mW - DENSITY: 5 J/cm² - TIME: 10 s per point (irradiation was applied at eight equidistant points within the area) each point with 0.2 J; totaling = 1.6 J</p>	<p>Tibialis anterior muscle</p>	<p>Started 2 hours after the injury, being performed daily with an interval of 24 hours, totaling 6 sessions.</p>	<p>Days 01, 07 and 14</p>	<p>Performance in the tissue repair process - Avoidance of fibrosis and reduce muscle atrophy.</p>
	<p>Silveira et al., 2012</p>	<p>BRAND: GaAs -LENGTH: 904 nm - POWER: 40 mW - DENSITY: 5 J/cm² - TIME: 2.5 J in five regions, applied 2, 12, 24, 48, 72, 96, and 120 h after muscle trauma, receiving a total dose of 17.5 J.</p>	<p>Gastrocnemius muscle</p>	<p>The animals were irradiated 2, 12, 24, 48, 72, 96, and 120 h after trauma</p>	<p>Two hours after the last irradiation</p>	<p>-PBM accelerated muscle healing -Increased ROS production and increased collagen synthesis are caused by traumatic muscle injury, effects that were diminished by PBM.</p>

Table 2: Effect of TFBM on muscle repair and muscle anti-inflammatory action in skeletal muscles in an experimental model

US	REFERENCE	PHOTOBIMODULATION PROTOCOL	MSC. APPLIED	APPLICATION PERIOD	ANALYSIS PERIOD	RESULTS
----	-----------	----------------------------	--------------	--------------------	-----------------	---------

Assis et al., 2016	<p>BRAND: GaAlAs and InGaAlP</p> <p>- LENGTH: 660 nm (red)/ 808nm (infrared)</p> <p>- POWER: 30 mW</p> <p>- DENSITY: 1.4 J of total energy per point, during 7 sessions, with the first application after the cryo-injury.</p> <p>- TIME: 47 seconds</p>	Right anterior tibial muscle	At 12 weeks old	7 days after surgery	<p>-Promotion of skeletal muscle repair with better responses in infrared laser</p> <p>- Favored myogenesis and angiogenesis and reduction of the inflammatory process.</p>
Moreira et al., 2011	<p>BRAND: AsGaAl</p> <p>- LENGTH: 830nm (infrared) / 940nm (infrared)</p> <p>- POWER: 30 mW / 70mW</p> <p>- DENSITY: 5 J/cm² / 5 J/cm²</p> <p>- TIME: 16.6 seconds / 15 seconds. From 7 to 14 days</p>	gastrocnemius muscle	24 hours after injury	Not specified.	No significant differences were found
Lakyova et al., 2010	<p>BRAND: MAESTRO/CCM AlGaInP laser</p> <p>- LENGTH:</p> <p>- POWER: 40 mW/cm²</p> <p>- DENSITY: 1 J/cm²</p> <p>- TIME: groups treated for 0-14 days (ischemic period; reperfusion period; laser irradiation doses applied during</p>	gracilis muscle	At 8 months	336 hours after the operation.	<p>-Profound reduction in the amount of necrotic tissue and atrophy</p> <p>-Improved recovery after I/R muscle injury</p> <p>-Attenuation of the inflammatory reaction and facilitating angiogenesis.</p>

		0 operative days and 1-14 postoperative days).				
	Liu et al., 2009	BRAND: He-Ne -LENGTH: 632.8 nm - POWER: 4, 9, and 14 mW - DENSITY: 12, 28, and 43 J/cm ² - TIME: 10 min, 0 and 18 h after exercise (subgroup 24 H), / 48 h post-exercise subgroup: 0, 18 and 42 h after exercise.	Bilateral gastrocnemius muscle	48 hours post-exercise subgroup: 0, 18, and 42 h after exercise.	24h or 48h after the last exercise.	-Increased antioxidant capacity of the muscle - Reduction of the inflammatory reaction in muscle tissue.

Table 3: Effect of TFBM on molecular aspects in skeletal muscle in an experimental model

MOLECULAR ASPECTS	REFERENCE	PHOTOBIO-MODULATION PROTOCOL	M SC. APPLIED	APPLICATION PERIOD	ANALYSIS PERIOD	RESULTS
	Lyomasa et al., 2013	BRAND: MM Optics -LENGTH: 780 nm - POWER: 40 mW - DENSITY: 20 J/cm ²	left masseter muscle	3 months old	72 hours after the last application	- Best results with six applications; - With six laser applications: dilation of the T tubules and cistern of the sarcoplasmic reticulum, increase in pinocytosed

		- TIME: 20s with different numbers of irradiations, (three, six, and ten applications), on alternate days.				vesicles in the endothelium; transfer to the cytosol, and increases in fluid transport from one surface to another.
--	--	---	--	--	--	---

5.2. ARTIGO 2:

TITLE: IS PHOTOBIMODULATION THERAPY CAPABLE OF REVERSING THE DAMAGES IN MASTICATION PERFORMANCE IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF OBESITY?

AUTHORS: Nilian Cerqueira Azevêdo^A; Hilton Justino da Silva^{A,B}; Roberto Sávio de Assunção Bastos^C; Maria Caroline Barbosa do Monte Silva^D; Isabelli Lins Pinheiro^E; Renata Emmanuele Assunção Santos^D; Ligia Cristina Monteiro Galindo^D; Raquel da Silva Aragão^D; Kelli Nogueira Ferraz-Pereira^{A,B}

AFFILIATIONS:

^A Graduate Program in Human Communication Health - PPGSCH – UFPE Recife, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^B Department of Speech Therapy, Federal University of Pernambuco, Campus Recife, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^C Director of the Photobiomodulation and Health Center. Head of the Speech Therapy Service at Hospital Pronto-socorro Mário Pinotti. Television. March 14, 500 - Umarizal, Belém - PA, 66055-490.

^D Graduate Program in Nutrition. Federal University of Pernambuco -UFPE, Campus Recife, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

^E Graduate Program in Nutrition, Physical Activity and Phenotypic Plasticity. Federal University of Pernambuco – Academic Center of Vitória

Corresponding Author: Kelli Nogueira Ferraz-Pereira. Federal University of Pernambuco, Campus Recife, 50670-901, Recife, PE, Brazil. Phone number: +55 81 998259212. E-mail: kelli.pereira@ufpe.br.

ABSTRACT

INTRODUCTION: The literature has related obesity to a specific chewing style. In view of this, treatment strategies associated with the damage resulting from obesity are important. **OBJECTIVE:** To evaluate the effects of photobiomodulation therapy on masticatory performance in an experimental model of obesity. **MATERIALS AND METHODS:** After birth, the animals were randomly distributed into two groups: Control (C): n=17 and litter reduction (RN): n=15. At 22 days, the animals were weaned and allocated to the cages according to the use of the laser: C/L1, CL2, RN/L1, RN/L2. Six irradiation applications were performed in the middle portion of the posterior region of the right and left masseter muscle. At 35 days of postnatal life, the superficial bundle of the masseter muscle was sacrificed and dissected. **RESULTS:** The group reduced neonatal litter size and increased body weight from the 14th to the 35th day of postnatal life when compared to the control group ($p<0.05$). An effect of the experimental obesity model was observed for the weight of the right ($p=0.025$) and left ($p=0.004$) masseter muscles. There was an increase in the duration of the masticatory sequences in the experimental model of obesity: ($p<0.0001$), number of masticatory cycles ($p<0.0001$) and a decrease in the masticatory rate ($p<0.0001$) **CONCLUSION:** The model of obesity induction proved to be effective, resulting in obese adult rats. Photobiomodulation did not show significant results.

KEYWORDS: Supernutrition; Obesity; masseter muscle; Reduction in litter size; Photobiomodulation therapy; Chewing.

INTRODUCTION

Chewing is a function characterized by breaking food into smaller particles, facilitating the swallowing process and ensuring the effective absorption of food by the body ^(1,2). This results in nutritional support and contributes to development and craniofacial growth ^(3,4).

Unlike sucking, swallowing and breathing, which are innate and reflexive, chewing is a learned function ^(5,6). According to the environment to which it is exposed, animal mastication can suffer influences related to the consistency, volume and texture that the food that is being ingested ^(7,8).

In rodents, the onset of mastication occurs at the end of the second postnatal week. It is possible to observe the transition of feeding behavior from sucking to chewing, reaching the adult pattern around 18-21 days of life ^(9,10). This is composed of three phases, similar to the steps that occur in humans, namely: incision or preparatory, crushing and pulverizing ^(11,12,13).

In addition to the aforementioned motor function, chewing also plays a fundamental role in triggering the cephalic phase of eating behavior. contributes to the release of hormones responsible for appetite and satiety, through contact with food in the oral cavity ^(14,15).

A growing relationship has been identified between alterations in masticatory parameters related to obesity, characterized by fewer chews per bite ^(16,17), accelerated ingestion rhythm ⁽¹⁷⁾, and larger bite sizes ⁽¹⁸⁾, resulting in increased food consumption ^(19,20).

The use of obesity induction models has become an important tool for study in controlled situations aimed at analyzing the impact of obesity. Among the different obesity induction models ^(21,23,24,25), in the present study, the obesity model obtained through the reduction of the neonatal litter (NB) was used. NB has as its main characteristic a reduction in the litter on the third day of life after birth, with only three pups remaining with their mother and with scheduled weaning at 21 days of life ^(26,27).

Various intervention strategies have sought to minimize the damage caused by food, especially in relation to the masticatory function, arising as a consequence of obesity. Among them, we will highlight photobiomodulation therapy (PBMT), which has gained more and more space in science, associating its use with improved performance and muscle repair ^(28,29,30). In addition, the association of PBMT with muscle anti-inflammatory action has also been observed, promoting skeletal muscle repair and favoring myogenesis and angiogenesis, generating, as a consequence, the improvement of muscle function ^(31,32,33).

The present study sought to evaluate the effects of photobiomodulation therapy on masticatory performance in rats from an experimental model of neonatal litter reduction.

EXPERIMENTAL METHODS

Thirty-two male Wistar albino rats (*Rattus Norvegicus*) from mother rats (n=14) from the vivarium colony of the Nutrition Department of the Federal University of Pernambuco were used. All experimental procedures followed the guidelines and were conducted in accordance with the recommendations of the National Council for the Control of Animal Experimentation - CONCEA and endorsed by the Ethics Committee of the Center for Biological Sciences of the Federal University of Pernambuco, Brazil, with a favorable opinion process n°: 0096/2021.

Seventy-two hours after birth, the animals were randomly distributed into two groups: Control (C; 9 pups per mother; n=17) or litter reduction (NB; 3 animals per mother; n=15) ⁽²³⁾. The pups were kept with their mothers during the lactation period. At 22 days of age, the animals were weaned and allocated in cages with a total of three pups per cage until analyses could be carried out at 35 days of postnatal life, when they were euthanized (by decapitation).

Standard vivarium conditions were used (temperature of 23 °C±1, light-dark cycle of 12/12 hours - dark: 8:00h to 20:00h / light: 20:00h to 8:00h), free access to water and the feeding. The animals received the standard commercial vivarium diet (Labina-Purina®).

Photobiomodulation Therapy (PBMT):

From 22 days of age, the animals were divided into groups according to the use of the laser. Thus, the following groups were constituted: Control/L1 (n=10) and Control/L2 (n=7), Litter Reduction/L1 (n=7) and Litter Reduction/L2 (n=8). Laser applications were performed in both groups, either placebo laser application (L1) or active laser (L2).

Initially, the animals were submitted to a period of three hours of food deprivation (9:00 am to 12:00 pm), aiming at not actively using the muscles. Then (from 12:00 pm to 1:00 pm), each animal was placed in an individual cage and the applications were started. The animals were restrained by the researchers in order to cause the least possible level of stress to the animals. For both groups, 6 applications were performed in the middle portion of the posterior region of the right and left masseter muscles.

The middle portion of the posterior region of the masseter muscle was chosen due to the large number of fibers in relation to the thickness of this muscle, for easy identification and mainly because of the laser scattering in the muscle tissue. As this experimental animal has a

small muscle, a single application point was selected. This is important because the local application area was almost the size of the surface area of the muscle.

The irradiations took place on alternate days (at 22, 24, 26, 28, 30 and 32 days of age), with an energy density equivalent to 3 J/cm^2 (1.01 mW/cm^2 of power, 30 seconds). A bilateral application was made in the masseter muscle at each point, totaling 6 J per session for each animal. On the day before the first application, the animal's hair in the masseter muscle region was removed with a razor kit (KISS NY), leaving the skin free of the presence of hair to minimize the refraction of light in the region of the laser application.

The application technique used was punctual contact, with light compression and an angle of incidence of 90° in relation to the target tissue. The placebo device had the same external appearance and light emission as the active PBMT device, but without any therapeutic dose emission, totaling a value of 0 J in placebo mode.

Complete information about the device and the dosimetry calculations used can be found in Table 1.

Table 1: Data regarding the dosimetry used in the active device.

Device	PBMT laser device DMC
Device power (mW)	$100 \pm 20\%$
Wavelength (nm)	808 ± 10
Beam diameter (mm ²)	3.4
Beam area (cm ²)	0.09842 (already adjusted with the spacer)
Energy per point	(J) 3J
Energy density per point (J/cm ²) 3	30.48
Mode	Continuous Emission
Irradiation time per point (s)	30
Total points	2
Total energy (J)	6 (per session)
Power Density (W/cm ²) 1.01	1.01

Number of sessions	6
Irradiation method	Tip in contact and punctual. 90° incidence angle in relation to the treated structure

Body Weight Analysis:

Body weight (in grams) was measured during the suckling period (at 7, 14 and 21 days of age) and at 35 days of age. To measure body weight, a digital electronic scale with an accuracy of 1 gram (Marte®) was used.

Analysis of masticatory mandibular movements:

At 35 days of age, masticatory performance was assessed by mandibular movements during mastication. Initially, the animals were submitted to a period of three hours of food deprivation (9:00 am to 12:00 pm). Then (from 12:00 pm to 1:00 pm), each the animal was placed individually in a transparent acrylic cage, and filmed (for 15 minutes each) with a DCR-DVD610 Sony camera, at a standardized distance of 75cm between the camera and cage. All animals were filmed in the dark cycle, as this is the period of greatest feeding activity.

Before starting the filming, thirty grams of the standard diet used was offered to each animal inside the cage in the form of pellets and, after the test, the food was weighed again. Thus, food consumption was obtained by the difference between food weight before and after the test. In addition, food consumption relative to feeding time was measured.

From the analysis of the videos, the following parameters were quantified (12, 13): Masticatory sequence number, number of masticatory cycles, duration of the masticatory phase and masticatory rate.

The videos were analyzed and quantified by two trained evaluators who were blind to which experimental group each animal belonged. This strategy was carried out with the aim of minimizing the risk of bias in measuring results.

Evaluation of the Weight of the Superficial Bundle of the Masseter Muscle:

At 35 days of postnatal life, the animals were sacrificed by decapitation. The superficial bundle of the masseter muscle was dissected and immediately weighed.

Data analysis:

The description of numerical variables was performed using mean and standard deviation, median and confidence interval. To compare means between groups, the ANOVA two-way repeated measures test and Tukey's post-test were performed for analysis of body weight and food consumption, and the ANOVA two-way and Tukey's post-test for the other parameters. The level of statistical significance was established at $p \leq 0.05$. Analyzes were performed using GraphPad Prism 6 software.

RESULTS:

With regard to body weight, the reduction in neonatal litter size promoted an increase in body weight from the 14th to the 35th day of postnatal life when compared to the control group ($p < 0.05$). Photobiomodulation therapy had no effect on the evolution of body weight in either the control or the litter reduction animals (Fig. 1).

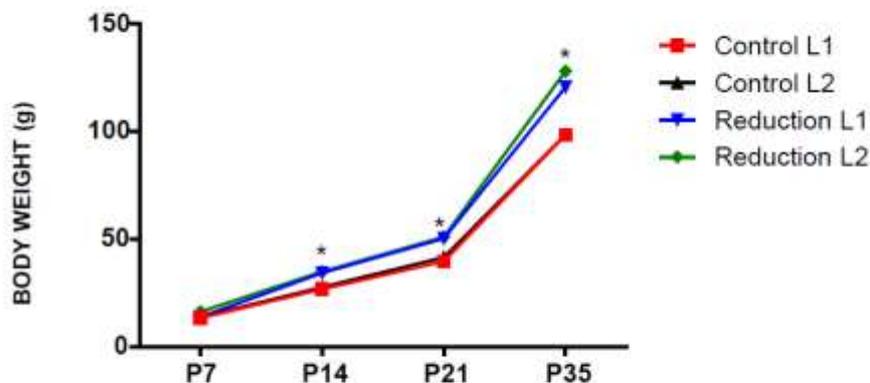


Figure 1: Effects of overnutrition induced by neonatal litter reduction and treatment with photobiomodulation therapy on body weight. Control Group L1 (n = 10), Control L2 (n = 7), Reduction L1 (n = 7) and Reduction L2 (n = 8) at 7, 14, 21 and 35 days of postnatal life. Data described as mean \pm SD. *Anova two-way repeated measures. Post hoc Tukey ($p < 0.05$).

An effect of the experimental model of obesity was observed on the absolute weight of the right masseter muscle ($F(1,28) = 5.575$; $p = 0.025$) (Fig. 2A) and the left masseter muscle ($F(1,27) = 9.66$; $p = 0.004$) (Fig. 2B). The L2 reduction group (0.2255 ± 0.05) showed greater right masseter muscle weight compared to the L2 control (0.1714 ± 0.04) (Fig. 2A). And, the same was verified in the left masseter muscle. The L2 reduction group (0.2181 ± 0.02) had greater weight than the L2 control (0.1512 ± 0.03) (Fig. 2B).

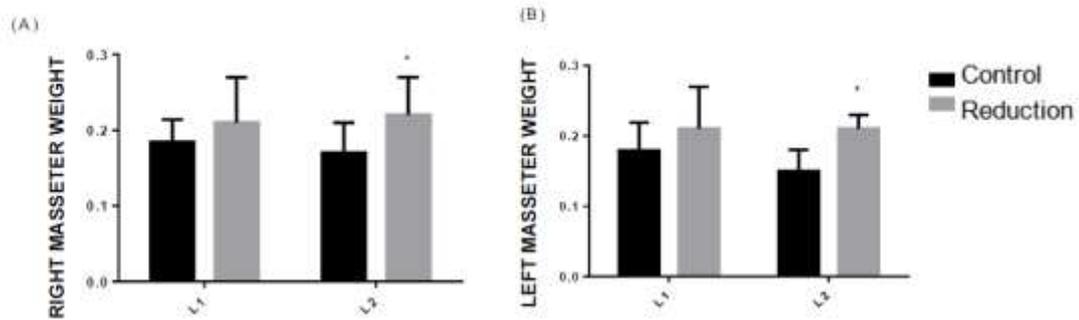


Figure 2: Effects of overnutrition induced by neonatal litter reduction and treatment with photobiomodulation therapy on the absolute weight of the superficial bundle of the masseter muscle. (A) Right masseter weight. (B) Left masseter weight. Control Group L1 (n = 10), Control L2 (n = 6), Reduction L1 (n = 7) and Reduction L2 (n = 8) at 35 days of postnatal life. Data described as mean \pm SD. *Anova two-way. Post hoc Tukey (p<0.05).

On the other hand, the relative weight referring to the right and left masseter muscles did not show differences in any of the four analyzed groups: Control L1 right (0.001877 \pm 0.0003527), Control L2 right (0.001733 \pm 0.0004491), reduction Right L1 (0.001739 \pm 0.000354), Right L2 reduction (0.001743 \pm 0.0003719). And, the same was verified in the left masseter muscle: Left L1 control (0.001826 \pm 0.0004877), Left L2 control (0.001523 \pm 0.000318), Left L1 reduction (0.001816 \pm 0.0006294) and Left L2 reduction (0.001701 \pm 0.000211) (Figs. 3A and B).

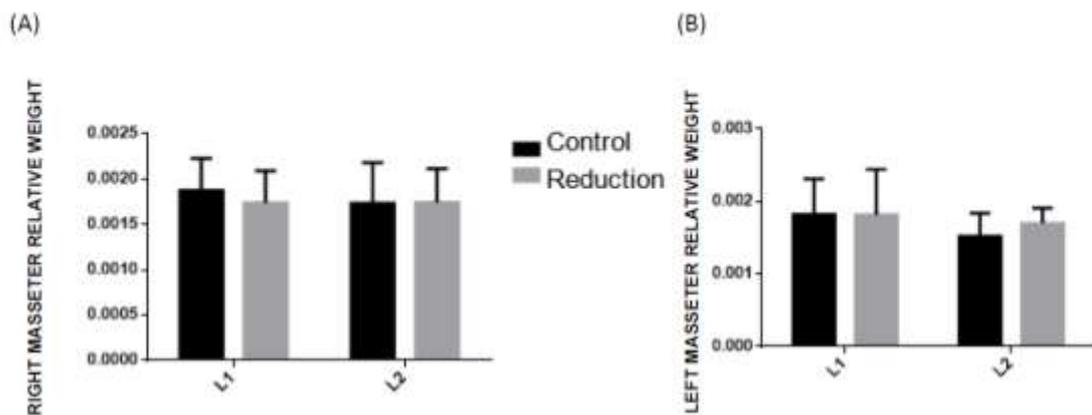


Figure 3: Effects of overnutrition induced by neonatal litter reduction and treatment with photobiomodulation therapy on the relative weight of the superficial bundle of the masseter muscle. (A) Right masseter weight. (B) Left masseter weight. Control Group L1 (n = 10), Control L2 (n = 6), Reduction L1 (n = 7) and Reduction L2 (n = 8) at 35 days of postnatal life. Data described as mean \pm SD. *Anova two-way. Post hoc Tukey (p<0.05).

Induced neonatal litter size-induced obesity, either with or without photobiomodulation therapy, did not affect food consumption during mastication (Fig.4).

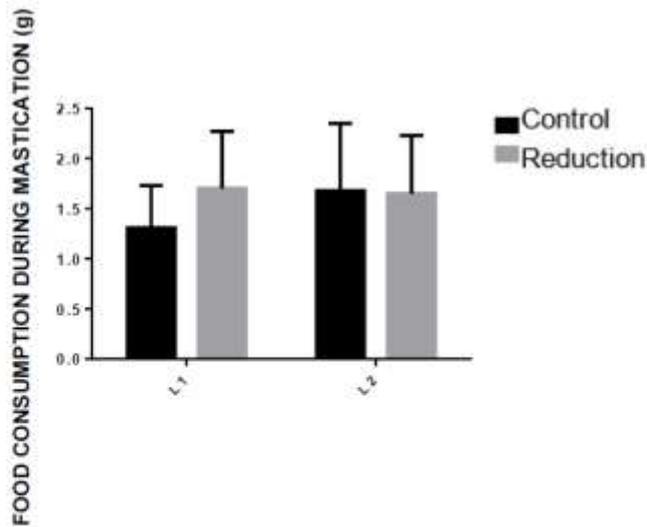


Figure 4: Effects of overnutrition induced by neonatal litter reduction and treatment with photobiomodulation therapy on food consumption during mastication. Control Group L1 (n = 10), Control L2 (n=7), Reduction L1 (n= 7) and Reduction L2 (n= 8) at 35 days of postnatal life. Data described as mean \pm SD. *Anova two-way. Post hoc Tukey (p<0.05).

With regard to masticatory performance, an effect of the experimental model of obesity was observed on the duration of masticatory sequences ($F(1,28) = 37.75$; $p < 0.0001$) (Fig. 5A), the number of masticatory cycles ($F(1,28) = 197.7$; $p < 0.0001$) (Fig. 5B) and the masticatory rate ($F(1,28) = 24.10$; ($p < 0.0001$) (Fig. 5C) The animals in the L1 reduction and L2 reduction groups spent less time chewing (Fig. 5A), as well as had fewer masticatory cycles (Fig. 5B) but chewed faster (Fig. 5C) compared to control L1 and control L2 .

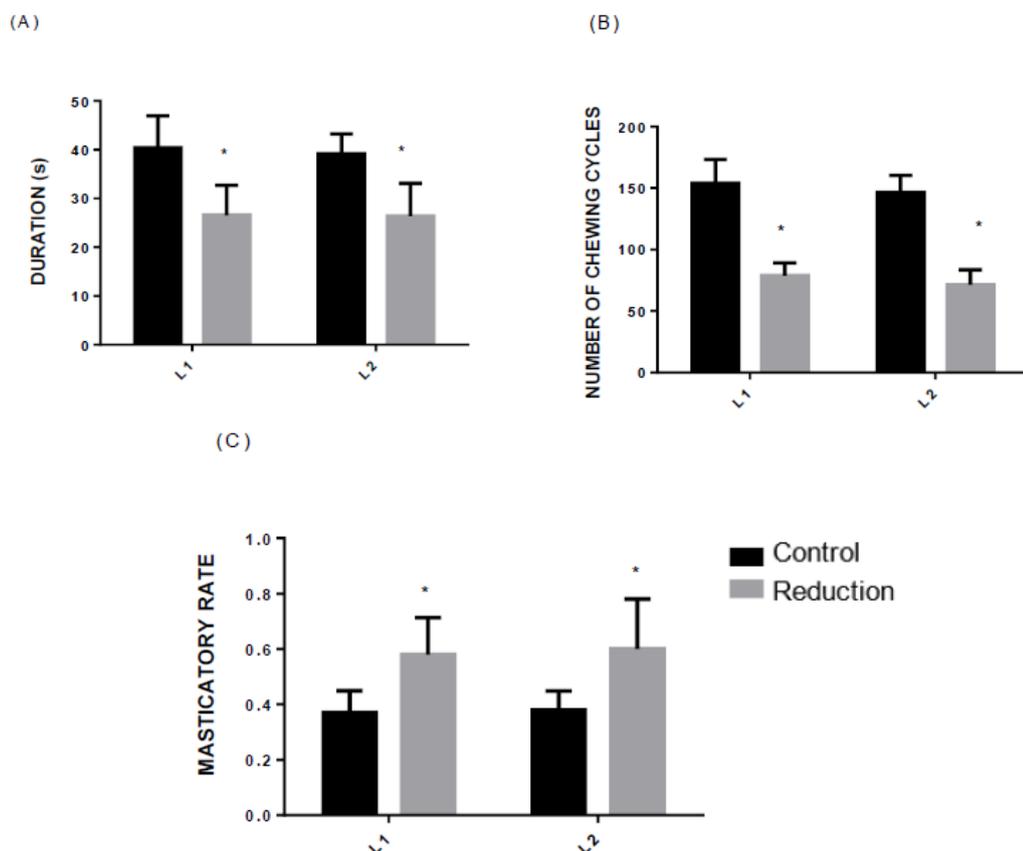


FIGURE 5: Effects of overnutrition induced by neonatal litter reduction and treatment with photobiomodulation therapy on (A) duration of the chewing sequence; (B) number of chewing cycles; (C) masticatory rate. Control Group L1 (n = 10), Control L2 (n = 7), Reduction L1 (n = 7) and Reduction L2 (n = 8) at 35 days of postnatal life. Data described as mean±SD. *Anova two-way. Post hoc Tukey (p<0.05).

DISCUSSION

The present study sought to analyze the effects of photobiomodulation therapy on masticatory performance in an experimental model of obesity. Through this study, it was possible to observe that the programming of the change in the neonatal environment, with the reduction of the litter, resulted in behavioral and functional changes: overweight in adult life and changes with regard to masticatory aspects.

These findings corroborate what has been reported in the literature, where a direct relationship between obesity and mastication has been shown in the same type of neonatal programming. There are increasing studies pointing out the close relationship between the exposure of the litter to nutritional stimuli in the initial phase of development, and the consequences of this leading to negative effects in adult life ^(27, 34).

The result agrees with a study where the presence of induced early postnatal overfeeding resulted in an increase in body weight, in addition to contributing to the emergence of symptoms such as hyperphagia which persisted into adulthood ⁽²⁹⁾. This made it possible to observe the existing relationship between the impact of supernutrition by the reduction of neonatal litter and masticatory performance. Although the two groups had ingested the same amount of food, the result was that the animals chewed faster, for a shorter period, and had fewer masticatory cycles.

These results reflect changes in masticatory function. Although the same amount of masticatory sequences was fixed for the analysis in both groups, the animals in the reduced litter group presented alterations in the parameters analyzed. This result indicates a bad processing of the food during mastication, consequently leading to an incomplete impact on the food bolus during the masticatory function.

The literature points out that chewing is the key point for the release of appetite and satiety hormones ^(14, 15). In addition, chewing is responsible for breaking the food into smaller particles so that there is adequate nutritional absorption of the food ⁽³⁵⁾. When chewing is not performed effectively, it impacts on the release of these hormones and, consequently, leads to weight gain.

The findings found in the present study corroborate the findings found in studies carried out with humans. In a current study, a comparison of masticatory characteristics was carried out with eutrophic, overweight and obese children. As a result, it was observed that the obese children took bigger bites, performed fewer chewing sequences and finished eating in a shorter time, compared to the results found in children with normal weight. These changes resulted in increased food consumption and the development of excess weight ^(36, 37).

Similar to the results found in a study with overweight/obese adolescents, there was less rhythm and chewing time, compared to adolescents with healthy weight ⁽³⁸⁾. In another study, objective methods were used to analyze mastication indices with an earphone-type light sensor. The time and number of chews was significantly less in the obese group compared to the healthy groups. The authors highlighted the existence of an altered chewing pattern in the overweight and obese population ⁽³⁹⁾, supporting the existing relationship between overweight associated with changes in mastication parameters.

As an intervention method for the altered aspects found, FTBM therapy was applied. This has become a highly used instrument in recent years, both in animal experiments ^(40, 41, 42) and with humans ^(43, 44, 45).

The benefits for different types of interventions and objectives are indisputable. In the present study, however, it was not possible to find significant results with the use of PBM therapy, either in the control group or in the litter reduction group. This result was also found in other studies ^(46, 47).

The difference with these findings has to do with the difficulty in standardizing aspects related to the applied protocols, in particular delimitation of the dosimetric data. Our study corroborates the results found in two integrative reviews ⁽⁴⁷⁾. In those studies, it was possible to observe a wide variation in the protocols used. Studies with the same objectives presented heterogeneous dosimeter data, with the results often not matching the effect of the intervention.

For example, one study used three different protocols in the same population of animals, varying the amount of irradiation each group would receive. As a result, there were better responses with the protocol of six applications and non-beneficial results with the protocol of ten applications, reinforcing the importance of correct delimitation of dosimetric data to obtain satisfactory results ⁽⁴²⁾.

In the present study it was not possible to prove positive effects of photobiomodulation therapy on masticatory performance. The literature has a growing number of studies that

address the impact of obesity on masticatory parameters in humans. This is not true for experimental models where it is still possible to observe a gap regarding the relationship between mastication and obesity.

The present study is a pioneer, then, with regard to the use of PBM therapy in experimental models of obesity, as well as an analysis of masticatory parameters. With deeper understanding of the subject, intervention strategies can be developed related to masticatory performance of the obese.

AUTHORSHIP

This work was supported and financed with the support of Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco - FACEPE

CONFLICT OF INTERESTS

None.

REFERENCES

- 1 Editora Unoesc [Internet]. Vista do Fisiologia da mastigação e deglutição; [citado 23 jul 2023]. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/acaodonto/article/view/15869/8612>
- 2 DOUGLAS CR. Douglas CR. Tratado De Fisiologia Aplicada As Ciências Médicas. 6a ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2005. 1410 p. 345-68.
- 3 Pastana SD, Costa SD, Chiappetta AL. Análise da mastigação em indivíduos que apresentam mordida cruzada unilateral na faixa-etária de 07 a 12 anos. Rev CEFAC [Internet]. Set 2007 [citado 03 maio 2023];9(3):351-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1516-18462007000300008>
- 4 Silva AS, Carminatti M, Lavra-Pinto BD, Franzon R, Araújo FD, Gomes E. Perfil mastigatório em crianças de três a cinco anos de idade. Rev CEFAC [Internet]. Jun 2016 [citado 23 maio 2023];18(3):568-80. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1982-0216201618316615>
- 5 Tagliaro ML, Calvi CD, Chiappetta AL. A fase de incisão no processo da mastigação: enfoque clínico. CEFAC. 2004;6(1):24-8.
- 6 Gomes LM, Bianchini EM. Caracterização da função mastigatória em crianças com dentição decídua e dentição mista. Rev CEFAC [Internet]. 2009 [citado 13 abril 2023];11(supl 3):324-33. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1516-18462009000700007>
- 7 Saconato M, Guedes ZC. Estudo da mastigação e da deglutição em crianças e adolescentes com Sequência de Möbius. Rev Soc Bras Fonoaudiol [Internet]. 2009 [citado 22 maio 2023];14(2):165-71. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1516-80342009000200005>
- 8 Brocard F, Verdier D, Arsenault I, Lund JP, Kolta A. Emergence of Intrinsic Bursting in Trigeminal Sensory Neurons Parallels the Acquisition of Mastication in Weanling Rats. J Neurophysiol [Internet]. Nov 2006 [citado 11 abr 2023];96(5):2410-24. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/jn.00352.2006>
- 9 Westneat MW, Hal WG. Ontogeny of feeding motor patterns in infant rats: An electromyographic analysis of suckling and chewing. Behav Neurosci [Internet]. 1992 [citado 02 mar 2023];106(3):539-54. Disponível em: <https://doi.org/10.1037/0735-7044.106.3.539>
- 10 Mostafaezur RM, Zakir HM, Yamada Y, Yamamura K, Iwata K, Sessle BJ, Kitagawa J. The Effect of Minocycline on the Masticatory Movements following the Inferior Alveolar Nerve Transection in Freely Moving Rats. Mol Pain [Internet]. Jan 2012 [citado 23 jul 2023];8:1744-8069. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1744-8069-8-27>
- 11 Ferraz-Pereira KN, da Silva Aragão R, Verdier D, Toscano AE, Lacerda DC, Manhães-de-Castro R, Kolta A. Neonatal low-protein diet reduces the masticatory efficiency in rats. Br J Nutr [Internet]. 4 set 2015 [citado 07 abr 2023];114(9):1515-30. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s0007114515003062>
- 12 Lacerda DC, Ferraz-Pereira KN, Visco DB, et al. Perinatal undernutrition associated to experimental model of cerebral palsy increases adverse effects on chewing in young rats.

Physiol Amp Behav [Internet]. Maio 2017 [citado 23 jul 2023];173:69-78. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.01.043>

13 Arosio M, Ronchi CL, Beck-Peccoz P, et al. Effects of Modified Sham Feeding on Ghrelin Levels in Healthy Human Subjects. *J Clin Endocrinol Amp Metab* [Internet]. Out 2004 [citado 23 jul 2023];89(10):5101-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jc.2003-032222>

14 Teff KL, Mattes RD, Engelman K. Cephalic phase insulin release in normal weight males: verification and reliability. *Am J Physiol Endocrinol Metab* [Internet]. 1 out 1991 [citado 23 jul 2023];261(4):E430—E436. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1991.261.4.e430>

15 Keane TM, Geller SE, Scheirer CJ. A parametric investigation of eating styles in obese and nonobese children. *Behav Ther* [Internet]. Mar 1981 [citado 23 jul 2023];12(2):280-6. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0005-7894\(81\)80079-2](https://doi.org/10.1016/s0005-7894(81)80079-2)

16 Li J, Zhang N, Hu L, Li Z, Li R, Li C, Wang S. Improvement in chewing activity reduces energy intake in one meal and modulates plasma gut hormone concentrations in obese and lean young Chinese men. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 20 jul 2011 [citado 23 jul 2023];94(3):709-16. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.015164>

17 Hill SW, McCutcheon NB. Contributions of obesity, gender, hunger, food preference, and body size to bite size, bite speed, and rate of eating. *Appetite* [Internet]. Jun 1984 [citado 23 jul 2023];5(2):73-83. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0195-6663\(84\)80026-4](https://doi.org/10.1016/s0195-6663(84)80026-4)

18 Ferster CB, Nurnberger JI, Levitt EB. The Control of Eating. *Obes Res* [Internet]. Jul 1996 [citado 23 jul 2023];4(4):401-10. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/oby.1996.4.4.401>

19 White AK, Venn B, Lu LW, et al. A comparison of chewing rate between overweight and normal BMI individuals. *Physiol Amp Behav* [Internet]. Jun 2015 [citado 23 jul 2023];145:8-13. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.03.028>

20 Sishi B, Loos B, Ellis B, et al. Diet-induced obesity alters signalling pathways and induces atrophy and apoptosis in skeletal muscle in a prediabetic rat model. *Exp Physiol* [Internet]. 10 nov 2010 [citado 23 jul 2023];96(2):179-93. Disponível em: <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.054189>

21 Harder T, Roepke K, Diller N, Stechling Y, Dudenhausen JW, Plagemann A. Birth Weight, Early Weight Gain, and Subsequent Risk of Type 1 Diabetes: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Epidemiology* [Internet]. 10 abr 2009 [citado 23 jul 2023];169(12):1428-36. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aje/kwp065>

22 Conceição EP, Trevenzoli IH, Oliveira E, Franco JG, Carlos AS, Nascimento-Saba CC, Moura EG, Lisboa PC. Higher White Adipocyte Area and Lower Leptin Production in Adult Rats Overfed During Lactation. *Horm Metab Res* [Internet]. 21 abr 2011 [citado 23 jul 2023];43(07):513-6. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0031-1275702>

23 Conceição I, González-Duarte A, Obici L, Schmidt HH, Simoneau D, Ong M, Amass L. “Red-flag” symptom clusters in transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst* [Internet]. Mar 2016 [citado 23 jul 2023];21(1):5-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jns.12153>

- 24 Plagemann A, Harder T, Rake A, Voits M, Fink H, Rohde W, Dörner G. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Res* [Internet]. Jul 1999 [citado 23 jul 2023];836(1-2):146-55. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(99\)01662-5](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(99)01662-5)
- 25 PLAGEMANN A. Perinatal programming and functional teratogenesis: Impact on body weight regulation and obesity. *Physiol Amp Behav* [Internet]. 15 dez 2005 [citado 23 jul 2023];86(5):661-8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.08.065>
- 26 Kou YT, Liu HT, Hou CY, et al. A transient protective effect of low-level laser irradiation against disuse-induced atrophy of rats. *Lasers Med Sci* [Internet]. 4 abr 2019 [citado 23 jul 2023];34(9):1829-39. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02778-5>
- 27 Rodrigues AL, De Souza ÉP, Da Silva SV, et al. Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. *J Endocrinol* [Internet]. 2 out 2007 [citado 23 jul 2023];195(3):485-94. Disponível em: <https://doi.org/10.1677/joe-07-0046>
- 28 Carvalho AF, Sousa PF, Feitosa MC, et al. The low-level laser on acute myositis in rats. *Acta Cir Bras* [Internet]. Dez 2015 [citado 23 jul 2023];30(12):806-11. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0102-865020150120000003>
- 29 Alves AN, Fernandes KP, Melo CA, et al. Modulating effect of low level-laser therapy on fibrosis in the repair process of the tibialis anterior muscle in rats. *Lasers Med Sci* [Internet]. 28 ago 2013 [citado 23 jul 2023];29(2):813-21. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10103-013-1428-9>
- 30 Assis TD, Soares MD, Victor MM. O uso do laser na reabilitação das desordens temporomandibulares. *Fisioter Em Mov* [Internet]. Jun 2012 [citado 23 jul 2023];25(2):453-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0103-51502012000200023>
- 31 Lakyová L, Toporcer T, Tomečková V, Sabo J, Radoňák J. Low-level laser therapy for protection against skeletal muscle damage after ischemia-reperfusion injury in rat hindlimbs. *Lasers Surg Med* [Internet]. 25 out 2010 [citado 23 jul 2023];42(9):825-32. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/lsm.20967>
- 32 Liu XG, Zhou YJ, Liu TC, Yuan JQ. Effects of Low-Level Laser Irradiation on Rat Skeletal Muscle Injury after Eccentric Exercise. *Photomed Laser Surg* [Internet]. Dez 2009 [citado 23 jul 2023];27(6):863-9. Disponível em: <https://doi.org/10.1089/pho.2008.2443>
- 33 Rodrigues AL, De Souza ÉP, Da Silva SV, et al. Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. *J Endocrinol* [Internet]. 2 out 2007 [citado 23 jul 2023];195(3):485-94. Disponível em: <https://doi.org/10.1677/joe-07-0046>
- 34 Pedersen A, Bardow A, Jensen SB, Nauntofte B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Dis* [Internet]. Maio 2002 [citado 23 jul 2023];8(3):117-29. Disponível em: <https://doi.org/10.1034/j.1601-0825.2002.02851.x>

- 35 Santos RE, Leandro CG, de França KE, Barbosa DA, Aragão RD, Pinheiro IL, Ferraz-Pereira KN. Mastication in overweight and obese children: A comparative cross-sectional study. *J Pediatr* [Internet]. Set 2022 [citado 23 jul 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2022.07.008>
- 36 Santos RE, da Silva HJ, da Silva MG, Barbosa DA, Silva CM, Azevêdo NC, Pinheiro IL, Lopes PE, Aragão RD, Pereira KN. Food consumption and masticatory performance of normal weight, overweight and obese children aged 7 to 12 years old. *Physiol Amp Behav* [Internet]. Mar 2023 [citado 23 jul 2023];114:141. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114141>
- 37 Idris G, Smith C, Galland B, Taylor R, Robertson CJ, Bennani H, Farella M. Relationship between chewing features and body mass index in young adolescents. *Pediatr Obes* [Internet]. 20 out 2020 [citado 23 jul 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/ijpo.12743>
- 38 Hidaka N, Kurose S, Takao N, Miyauchi T, et al. Masticatory Behaviors and Gender Differences in People with Obesity as Measured via an Earphone-Style Light-Sensor-Based Mastication Meter. *Nutrients* [Internet]. 21 jul 2022 [citado 23 jul 2023];14(14):2990. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu14142990>
- 39 Kou YT, Liu HT, Hou CY, Lin CY, Tsai CM, Chang H. A transient protective effect of low-level laser irradiation against disuse-induced atrophy of rats. *Lasers Med Sci* [Internet]. 4 abr 2019 [citado 23 jul 2023];34(9):1829-39. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02778-5>
- 40 Tomazoni SS, Casalechi HL, Ferreira CD, et al. Can photobiomodulation therapy be an alternative to pharmacological therapies in decreasing the progression of skeletal muscle impairments of mdx mice? *PLOS ONE* [Internet]. 12 ago 2020 [citado 23 jul 2023];15(8):e0236689. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236689>
- 41 Iyomasa MM, Rizzi EC, Leão JC, et al. Zymographic and ultrastructural evaluations after low-level laser irradiation on masseter muscle of HRS/J strain mice. *Lasers Med Sci* [Internet]. 14 jul 2012 [citado 23 jul 2023];28(3):777-83. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10103-012-1156-6>
- 42 de Almeida AN, de Souza Ferreira SL, Balata PM, da Cunha DA, Pernambuco L, da Silva HJ. Thermography in complementary assessments of head and neck muscles: A scoping review. *J Oral Rehabil* [Internet]. 22 set 2022 [citado 23 jul 2023]. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/joor.13374>
- 43 Chellappa D, Thirupathy M. Comparative efficacy of low-Level laser and TENS in the symptomatic relief of temporomandibular joint disorders: A randomized clinical trial. *Indian J Dent Res* [Internet]. 2020 [citado 23 jul 2023];31(1):42. Disponível em: https://doi.org/10.4103/ijdr.ijdr_735_18
- 44 Neves M, Tavares AL, Reginato A, Kakihata CM, Bertolini GR, Ribeiro LF. Low-Level Laser Therapy in Different Wavelengths on the Tibialis Anterior Muscle of Wistar Rats After Nerve Compression Injury. *J Manip Physiol Ther* [Internet]. Set 2020 [citado 23 jul 2023];43(7):700-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jmpt.2019.05.012>

45 Tsuk S, Lev YH, Fox O, Carasso R, Dunsky A. Does Photobiomodulation Therapy Enhance Maximal Muscle Strength and Muscle Recovery? J Hum Kinet [Internet]. 21 jul 2020 [citado 23 jul 2023];73(1):135-44. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/hukin-2019-0138>

46 Moreira FF, Oliveira EL, Barbosa FS, Silva JG. Laserterapia de baixa intensidade na expressão de colágeno após lesão muscular cirúrgica. Fisioter Pesqui [Internet]. Mar 2011 [citado 23 jul 2023];18(1):37-42. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s1809-29502011000100007>

47 Alves VM, Furlan RM, Motta AR. Immediate effects of photobiomodulation with low-level laser therapy on muscle performance: an integrative literature review. Rev CEFAC [Internet]. 2019 [citado 23 jul 2023];21(4). Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1982-0216/201921412019>

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Os resultados confirmam que repercussões que incidem no período perinatal repercutem até a fase adulta. Nesse sentido, pode-se observar que o modelo de indução de obesidade foi efetivo, obtendo como resultado, ratos adultos obesos.

Como consequência, esses animais apresentaram alterações nos parâmetros mastigatórios analisados. O que corrobora com a relação existente entre excesso de peso associada a alterações nos parâmetros da mastigação (duração, ciclos e taxa mastigatória), o que resulta em um mau processamento do alimento.

Embora não tenha sido observada ação direta da terapia de fotobiomodulação nos grupos analisados, este estudo sinaliza para as lacunas existentes. É importante ressaltar a importância da delimitação dos dados dosimétricos aplicados para determinada intervenção, abrindo caminho para a maior reflexão e atenção aos referidos achados. Sugere-se novas pesquisas objetivando modelos de intervenção aos achados encontrados, referentes aos parâmetros mastigatórios alterados.

7. PERSPECTIVAS:

Os demais resultados relacionados aos aspectos musculares (perímetro, área de secção transversa, tipagem das fibras e expressão gênica do IGF1 e IGF2 do feixe superficial do músculo masseter) encontram-se em processo de análise. Devido ao cenário pandêmico ainda vivenciado em 2022 e início de 2023, além das dificuldades encontradas nas dinâmicas laboratoriais, não foi possível concluir as análises. A perspectiva de finalização e publicação está programada para o segundo semestre de 2023.

REFERÊNCIAS:

- ALMEIDA et al. Thermography in complementary assessments of head and neck muscles: A scoping review. *J Oral Rehabil.* 2022;00:1–9.
- ALVES AN, FERNANDES KP, MELO CA, YAMAGUCHI RY, FRANCA CM, TEIXEIRA DF, BUSSADORI SK, NUNES FD, MESQUITA-FERRARI RA (2014) Modulating effect of low level-laser therapy on fibrose in the repair process of the tibial anterior muscle em ratos. *Lasers Med Sci* 29(2):813–821
- AMORIM, A.M, et al. Termografia infravermelha na odontologia / Infrared thermography in dentistry. *HU Revista, Juiz de Fora, v. 44, n. 1, p. 15-22, jan./mar. 2018*
- ANDRADE, M.T.V.; KATZ, C.R.T. Relação entre a erupção dos dentes decíduos e manifestações locais e/ou sistêmicas: revisão integrativa. *Arq Odontol, Belo Horizonte, 54: e12, 2018*
- AROSIO, M. et al. Effects of modified sham feeding on ghrelin levels in healthy human subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* v.89, n.10, 5101-4, out. 2004. Doi: 10.1210/jc.2003-032222. PMID: 15472212.
- ASSIS, T.O, SOARES, M.S, VICTOR, M.M. O uso do laser na reabilitação das desordens temporomandibulares. *Fisioter Mov.* 25(2):453-9, 2012 abr/jun.
- BARKER DJ, WINTER PD, OSMOND C, MARGETTS B, SIMMONDS SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet.* 1989;2:577-80.
- BARROS, T. A. (2016). Mastigação: avaliação com dois diferentes instrumentos. [Dissertação de Mestrado]. Pontifícia Universidade Católica de São Paulo <https://tede2.pucsp.br/bitstream/handle/19101/2/Thayn%c3%a3%20Aguiar%20Barros.pdf>
- BARKER, D.J., OSMOND, C. Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet.* 1986 May 10;1(8489):1077-81. doi: 10.1016/s0140-6736(86)91340-1. PMID: 2871345.
- BENTO-SANTOS, A.; SANTOS J.A.; SILVA, A.I.; NOVAES, L.C.M.G.; FERRAZ-PEREIRA, K.N.; SOUZA, S.L. LEANDRO, C.V.G.; MANHÃES-DE-CASTRO, R. Critérios para escolha da amostra em experimentos com ratos Wistar. *RESBCAL, São Paulo, v.1 n.1, p. 121-129, jan./fev./mar. 2012*
- BENTO-SANTOS A, SILVEIRA L DOS R, MANHÃES-DE-CASTRO R, LEANDRO CG. Desnutrição perinatal e o controle hipotalâmico do comportamento alimentar e do metabolismo do músculo esquelético. *Rev Nutr [Internet]. 2012May;25(3):403–13.*
- BIANCHINI, E.M.G. Mastigação e ATM-Avaliação e terapia. In: Marchesan IQ, organizadora. *Fundamentos em fonoaudiologia: aspectos clínicos da motricidade oral.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1998. p. 37-49
- BOSIO, C.G.P., FUJIMOTO, R.H.P., SOUZA, M.B.C.P., BOSIO, M. PESQUISA Translacional: o desempenho dos Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia na área da saúde. *SAÚDE DEBATE | RIO DE JANEIRO, V. 43, N. ESPECIAL 2, P. 48-62, NOV 2019*
- BRIOSCHI ML, MACEDO JF, MACEDO RAC. Termometria Cutânea Infravermelha de Alta Sensibilidade (T.I.A.S.) – Definição, Aplicações e Especificações. *Rev Med Paraná.* 2001;59(2):56-63. DOI: 10.1590/0103-11042019S204

BRIOSCHI, M. L. Metodologia de normalização de análise do campo de temperaturas em imagem infravermelha humana. 2011. 115f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

BLAAUW, B.; SCHIAFFINO, S.; REGGIANI, C. Mechanisms Modulating Skeletal Muscle Phenotype. *Comprehensive Physiology*. V.3, n. 4, 1645-87. Oct. 2013 doi: 10.1002/cphy.c130009. PMID: 24265241.

BOULLU-CIOCCA, S. et al., Postnatal diet-induced obesity in rats upregulates systemic and adipose tissue glucocorticoid metabolism during development and in adulthood: its relationship with the metabolic syndrome. *Rev Diabetes*. V54. N.1,197-203, jan. 2005.

BROCARD F., DORLY V., ARSENAULT I, LUND JP, KOLTA A. Emergence of intrinsic bursting in trigeminal sensory neurons parallels the acquisition of mastication in weanling rats. *J Neurophysiol* v.96,2410–2424, (2006).

CABRAL FILHO, J.E.; JUNIOR, J.R.S.; K.F. AGRA. Pesquisa Translacional e a importância da sua difusão. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.*, Recife, 13 (4): 293-296 out. / dez., 2013

CADENA-BURBANO, E. V. et al. A maternal high-fat/high-caloric diet delays reflex ontogeny during lactation but enhances locomotor performance during late adolescence in rats. *Nutritional Neuroscience*, v. 8305, n. p. 1–12, aug.2017.

CARVALHO AFM, SOUSA PFB, FEITOSA MCP, NPMF COELHO, EML BARROS, VC FEITOSA, EAL ARISAWA. The low-level laser on acute myositis in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol. 30 (12) 2015*

CHAVES WF, PINHEIRO IL, DA SILVA JM, MANHÃES-DE-CASTRO R, AND DA SILVA ARAGÃO R. Repercussions of maternal exposure to high-fat diet on offspring feeding behavior and body composition: a systematic review. *Journal of Developmental Origins of Health and Disease* doi: 10.1017/S2040174420000318

CHORILLI, M.; MICHELIN, D.C.; SALGADO, H.R.N. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, v. 28, n.1, p.11-23, 2007 ISSN 1808-4532

CHOTARD, H, IOANNOU, S, DAVILA-ROSS, M. Infrared thermal imaging: Positive and negative emotions modify the skin temperatures of monkey and ape faces. *Am J Primatol*. 2018; 80:e22863. <https://doi.org/10.1002/ajp.22863>

COLTRI. B. M. et al. Avaliação Morfométrica da Influência da Obesidade Sobre o Tecido Gengival de Ratos com Periodontite Experimental. *Rev Bras ci Saúde* 21(2): 127-132 2017.

CONCEIÇÃO, E.P.S. Higher White Adipocyte Area and Lower Leptin Production in Adult Rats Overfed During Lactation. *Horm Metab Res*. V.43: 1– 4,2011.

CONCEIÇÃO, I. et al. “Red-flag” symptom clusters in transthyretin familial amyloid polyneuropathy. *J Peripher Nerv Syst*. V. 21, n1, 5-9, mar. 2016.

CREGE, D.O. et al. Alterações Cardiometabólicas em Ratos Wistar Alimentados com Dieta Hiperlipídica e Hipercolesterolêmica por Seis Semanas. *Rev. Int J. Cardiovasc Sci*.2016;29(5):362-369

DE BRITO BITENCOURT, et al. Administration of low-level laser on muscles of mastication following the induction of initial fatigue: protocol for a randomized, controlled. *Clinical trial. Medicine*. v.97, n.26, e11340, jun. 2018. Doi: 10.1097/MD.00000000000011340. PMID: 29953026; PMCID: PMC6039591.

- DELLOW, P. G ; LUND, J.P. Evidence for central timing of rhythmical mastication. the journal of physiology society. Volume 215, Issue 1, 1971 Pages 1-13, May 1.
- DOUGLAS CR. Fisiologia da mastigação. In: Douglas CR, organizador. Tratado de fisiologia aplicada à fonoaudiologia São Paulo: Robe Editorial; 2002. p. 345-68.
- ENLOW DH. Crescimento facial. Rio de Janeiro, Artes médicas, 1993. 553 p.
- FELÍCIO, C. M.; MELCHIOR, M. O.; SILVA M. A. M. R.; CELEGHINI, R. M. S. Desempenho mastigatório em adultos relacionado com a desordem temporomandibular e com a oclusão. Pró-Fono Revista de Atualização Científica, Barueri (SP), v. 19, n. 2, p.151-158, abr.-jun. 2007
- FERRARESI, C.; HAMBLIN, M. R.; PARIZOTTO, N. A. Low-level laser (light) therapy (LLLT) on muscle tissue: performance, fatigue and repair benefited by the power of light. Photonics & lasers in medicine, v. 1, n. 4, p. 267-286, 2012.
- FERRAZ-PEREIRA, K. N. et al. Neonatal low-protein diet reduces the masticatory efficiency in rats. British Journal of Nutrition, v. 114, n. 9, p. 1515–1530, 2013.
- FERSTER, C. B.; NURNBERGER, J. I.; LEVITT, E.B. The control of eating. Journal of Mathematics. 1 :87-109, jun. 1962.
- FERREIRA, Sara Loureiro de Souza et al. The use of photobiomodulation for the muscles of head and neck: an integrative review. Audiology-Communication Research, v. 26, e2552, feb. 2022. Doi:10.1590/2317-6431-2021-2552
- FERREIRA, LYDIA MASAKO E FERREIRA, LUIZ ROBERTO KOBUTI. Modelo experimental: revisão histórica e conceitual. Acta Cirúrgica Brasileira [online]. 2003, v. 18, n. spe. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502003001100001>.
- FERREIRA, LYDIA MASAKO, HOCHMAN, BERNARDO E BARBOSA, MARCUS VINÍCIUS JARDINI. Modelos experimentais em pesquisa. Acta Cirúrgica Brasileira [online]. 2005, v. 20, suppl 2. <https://doi.org/10.1590/S0102-86502005000800008>.
- FOLAYAN, M.; OWOTABE, F.; ADEJUYIGBE, E.; SEN, S.; LAWAL, B.; NDUKWE, K. The timing of the primary dentition in Nigerian children. Am J Phys Anthropol., v. 134, n. 4, p. 443- 448, dec., 2007.
- GLUCKMAN, P. D., HANSON, M. A., & LOW, F. M. The role of developmental plasticity and epigenetics in human health. Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews, 93(1), 12–18. doi:10.1002/bdrc.20198
- GOMES, L. M.; BIANCHINI, E. M. G. Caracterização da função mastigatória em crianças com dentição decídua e dentição mista. Revista CEFAC, v.11, n.3, p. 324-333, 2009.
- GOMES et al. Bite Force, Thickness, and Thermographic Patterns of Masticatory Muscles Post-Hemorrhagic Stroke Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases, Vol. 31, No. 1 (January), 2022: 106173.
- HADDAD, J. Caracterização da morfologia dos músculos da mastigação do rato da linhagem wistar (rattus norvegicus albinus) em microtomografia computadorizada. Tese mestrado (Biologia Buco-dental, na Área de Anatomia). Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas. Piracicaba, 2018. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/296896353.pdf>

- HALES, C. N.; BARKER, D. J.; CLARK, P. M.; COX, L. J.; FALL, C.; OSMOND, C.; WINTER, P. D. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ*. 303: 1019-1022,1991.
- HALES CN, BARKER DJ. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia*. 1992;35:595-601.
- HAMBLIN M. R. (2017). Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS biophysics*, 4(3), 337–361.
<https://doi.org/10.3934/biophy.2017.3.337>
- HARA A, HARA H, UEHARA M, IMAMURA N, et al. The relationship between the craniofacial morphology and the fatigability of the masseter muscle during isometric contraction. *Orthodontics Waves*. v.69, p.85-91, 2010.
- HIDAKA, N. et al. Masticatory Behaviors and Gender Differences in People with Obesity as Measured via an Earphone-Style Light-Sensor-Based Mastication Meter. *Nutrients* 2022, 14, 2990. <https://doi.org/10.3390/nu14142990>.
- HILL, S.W., MCCUTCHEON, N.B. Contributions of obesity, gender, hunger, food preference, and body size to bite size, bite speed, and rate of eating. *Appetite*. 5 (2) 73-83, 1984.
- HIRAOKA K. Changes in masseter muscle activity associated with swallowing. *J. Oral Rehabil*. V. 31, n. 10, 963-7. 2004. doi: 10.1111/j.1365-2842.2004.01325.x. PMID: 15387835.
- HEISKANEN, V., & HAMBLIN, M. R. (2018). Correction: Photobiomodulation: lasers vs. Light emitting diodes?. *Photochemical & photobiological sciences: Official journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 18(1), 259. Advance online publication. <https://doi.org/10.1039/c8pp90049c>
- HULLAND SA, LUCAS JO, WAKE MA, HESKETH KD. Eruption of the primary dentition in human infants: a prospective descriptive study. *Pediatr Dent*. 2000;22:415-21.
- HOOPER SL, THUMA JB. Invertebrate muscles: muscle specific genes and proteins. *Physiol Rev*. 2005;85:1001-60
- IDRIS, G., TAYLOR, R., FARELLA, M., SMITH, C., ROBERTSON, C. GALLAND, B., BENNANI, H. Relationship between chewing features and body mass index in young adolescents. *Pediatric Obesity*. 2020; <https://doi.org/10.1111/ijpo.12743>.
- JANSEN KM, PAVLATH GK. Mannose receptor regulates myoblast motility and muscle growth. *J Cell Biol*. 2006;174(3):403-13.
- KAVIANI A, DJAVID GE, ATAIE-FASHTAMI L, FATEH M, GHODSI M, SALAMI M, ZAND N, KASHEF N, LARIJANI B (2011) A randomized clinical trial on the effect of low-level laser therapy on chronic diabetic foot wound healing: a preliminary report. *Photomed Laser Surg* 29:109–114
- KEANE, T.M., GELLER, S.E., SCHEIRER, C.J. A parametric investigation of eating styles in obese and nonobese children. *Behavior Therapy*. 12(2): 280-286, 1981.
- KOGO, M.; KOIZUMI, H.; MATSUYA, T. Coordination between palatal and laryngeal muscle activities in response to rebreathing and lung inflation. *Cleft Palate Craniofac J*. 33(6):459-62,1996.

- KUBOTA K, SUNADA K. Changes in blood flow at the mandibular angle and Horner syndrome in a rat model of superior cervical ganglion block. *J Dent Anesth Pain Med.* 2018 Apr;18(2):105-110. doi: 10.17245/jdapm.2018.18.2.105. Epub 2018 Apr 27
- LACERDA, D. C. et al. Perinatal undernutrition associated to experimental model of cerebral palsy increases adverse effects on chewing in young rats. *Physiology and Behavior*, v. 173, p. 69–78, 2017.
- LAWSON R. IMplications of surface temperatures in the diagnosis of breast cancer. *Can Med Assoc J.* 1956;75(4):309-11.(*Mesocricetus auratus*). *J Morphol.* 165(3):237-54,1980.
- LI, J., ZHANG, N., HU, G., LI, Z., R. LI, C. LI, et al., Improvement in chewing activity reduces energy intake in one meal and modulates plasma gut hormone concentrations in obese and lean young Chinese men. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 94:709–716, 2011.
- LIBERA LD, CARPENE E. Myosin heavy and light chains and myosin light chain kinase in skeletal and smooth muscle of some wild avian species. *Comp Biochem Physiol.* 1997;116(B):45-50.
- KOU YT, LIU HT, HOU CY, LIN CY, TSAI CM, CHANG H. A transient protective effect of low-level laser irradiation against disuse-induced atrophy of rats. *Lasers Med Sci.* 34(9):1829-1839, 2019 Dec. doi: 10.1007/s10103-019-02778-5. PMID: 30949786.
- MACHADO, C. C. et al. O conhecimento dos médicos sobre atuação fonoaudiológica pré e pós operatório de gastroplastia em um município do Rio Grande do Sul. *Rev. Bras. Pesq. Saúde, Vitória*, 19 (2): 46-55, Abr-Jun-2017
- MATSAKAS, M.; PATEL, K. Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli. *Histol Histopathol.* V. 24, n.12, 611-629. 2009
- MÁXIMO et al. Fotobiomodulação com laser de baixa potência na função mastigatória e nos movimentos mandibulares em adultos com disfunção temporomandibular: revisão sistemática com metanálise. *CoDAS* 2022;34(3):e20210138 DOI: 10.1590/2317-1782/20212021138
- MELIS, M.; DI GIOSIA, M.; ZAWAWI, K.H. Low Level Laser Therapy for the Treatment of Temporomandibular Disorders: A Systematic Review of the Literature. *The journal of craniomandibular practice* october 2012, vol. 30, no. 4.
- MELO, P., MARQUES, S., & SILVA, O. M. Portuguese self-reported oral-hygiene habits and oral status. *International dental journal*, 2017. 67(3), 139–147. <https://doi.org/10.1111/idj.12273>.
- MENEGASSI, B. Mastigação: reflexões e interfaces com a saúde. *Rev. Ensaios e Diálogos Abrasco*, 07; 26-29, MS 2017.
- MESTER, E. et al. Effect of Laser Rays on Wound Healing. *The American Journal of Surgery.* v.122, p.532-535, 1971
- MEENAKSHI A., PAUL P. Human chewing pattern: Prosthodontic overview. *International Journal of Oral Health and Medical Research*, 4(1), 80–85, 2017.
- MILAGRO, F.I., et al. Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: Progresses and perspectives. *Molecular Aspects of Medicine* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2012.06.010>

- MONROY, P.L.C; YABLONKA-REUVENI, Z.; GREFFE, S.; KUIJPERS-JAGTMAN, A.M; WAGENER, F. A.D.T.G.; VON DEN HOFF, J.W. Isolation and Characterization of Satellite Cells from Rat Head Branchiomic Muscles.
- MORGANE, P.J.; MOKLER, D.J.; GALLER, J.R. Effects of prenatal protein malnutrition on the hippocampal formation. *Neurosci Biobehav Rev.* 26(4):471-83, 2002.
- MOSTAFEEZUR RM, ZAKIR HM, YAMADA Y, et al. The Effect of Minocycline on the Masticatory Movements following the Inferior Alveolar Nerve Transection in Freely Moving Rats. *Molecular Pain.* January 2012. doi:10.1186/1744-8069-8-27
- NIEDZIELSKA, I.; PAWELEC, S.; PUSZCZEWICZ, Z. The employment of thermographic examinations in the diagnostics of diseases of the paranasal sinuses. *Dentomaxillofacial Radiology.* v. 46, n. 6, p. 20160367, jun., 2017.
- OLIVEIRA JHP, DOURADO FILHO MG, LIMA NS, SILVA HJ, MARCELINO FILHO M. Relação da espessura e da atividade elétrica do músculo masseter com a força de mordida: um estudo morfológico e eletrofisiológico. *Rev. CEFAC.* 2016 Maio-Jun; 18(3):589-600. doi: 10.1590/1982-0216201618318915.
- OLIVEIRA, T.M.D. Análise de Sistemas de Energia e Máquinas Elétricas com recurso a termografia. 2012. 170f. Tese (Mestrado Integrado em Engenharia Eletrotécnica e de Computadores). Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 2012.
- OZANNE, S. E.; HALES, C. N. Lifespan: catch-up growth and obesity in male mice. *Nature.* 427, 6973, 411-412, 2004.
- OLKOSKI, L. E.; BONAI, N.; PAVELSKI, M. D.; MAGRO FILHO, O.; LUCIANO, A. A.; FRIGO, L.; BARBIERI, T.; PAVELSKI, M. D. Laserterapia de baixa intensidade e seus rsdv10i2.12159.
- PASSARELLA S, CASAMASSIMA E, MOLINARI S, PASTORE D, QUAGLIARIELLO E, CATALANO IM, CINGOLANI A (1984) Aumento efeitos sobre a dor, edema, trismo e parestesia: uma revisão integrativa da literatura. *Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 2, p. e9210212159, 2021. DOI: 10.33448/*
- PASINATO, F et al. Estudos das variáveis cinemáticas da mastigação unilateral e habitual de indivíduos saudáveis. *CoDAS, v.29, n.2, e20160074, 2017.*
- PASTANA SG, COSTA SM, CHIAPPETTA ALML. Análise da mastigação em indivíduos que apresentam mordida cruzada unilateral na faixa-etária de 07 a 12 anos. *Rev CEFAC, São Paulo, v.9, n.3, 339-50, jul-set, 2007*
- PATRIANOVA, M.E.; KROLL, C.D; BÉRZIN, F. Seqüência e cronologia de erupção dos dentes decíduos em crianças do município de Itajaí (SC). *Rev Sul-Bras Odontol., v. 7, n. 4, p. 406-413, oct.-dec., 20*
- PEDERSEN, A.M., BARDOW, A., JENSEN, S.B., NAUNTOFTE, B. Saliva and gastrointestinal 525 functions of taste, mastication, swallowing and digestion. *Oral Diseases, (2002). 8: 117–129.*
- PEREIRA, L.J., DUARTE GAVIAO, M.B., VAN DER BILT, A. Influence of oral characteristics and food products on masticatory function. *Acta Odontol Scand. V. 64, n. 4, 193-201, aug. 2006. doi: 10.1080/00016350600703459. PMID: 16829493.*
- PIOVESAN RF, MARTINS MD, FERNANDES KPS, BUSSADORI SK, SELISTRE-DE-ARAÚJO HS, MESQUITA-FERRARI RA. Uma revisão sobre a plasticidade do músculo

esquelético: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional. *Fisioter. Mov.*, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 211-220, abr./jun. 2009

PLAGEMANN, A, et al. Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome x-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Res.*836(1-2):146-55, 1999.

PLAGEMANN, A. Perinatal programming and functional teratogenesis: Impact on body weight regulation and obesity. *Physiology and Behavior*, v. 86, n. 5, p. 661–668, 2005.

PLAGEMANN, A.; HARDER, T.; DUDENHAUSEN, J.W. Childhood obesity, other cardiovascular risk factors, and premature death. *N Engl J Med.* 362:1840-1841,2010.

PLAGEMANN, A. et al. Birth weight, early weight gain, and subsequent risk of type 1 diabetes: systematic review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 169(12):1428-36,2009.

POWER, M. L.; SCHULKIN, J. Anticipatory physiological regulation in feeding biology: Cephalic phase responses. *Appetite*, v. 50, n. 2-3,194-206, May, 2008.

RAHAL, A.; GOFFI-GOMEZ, M. V. S. Estudo eletromiográfico do músculo masseter durante o apertamento dentário e mastigação habitual em adultos com oclusão dentária normal. *Rev Soc Bras Fonoaudiol.* 2009;14(2):160-4

RIZZI, E. C., et al. Low-Level Laser Intensity Application in Masseter Muscle for Treatment Purposes, *Photomedicine and Laser Surgery.* Supplement 2. V. 28, N. 32.Oct. 2010. <https://doi.org/10.1089/pho.2009.2599>

RODRIGUES AL, DE SOUZA EP, DA SILVA SV, et al. Low expression of insulin signaling molecules impairs glucose uptake in adipocytes after early overnutrition. *The Journal of Endocrinology.* 2007 Dec;195(3):485-494. DOI: 10.1677/joe-07-0046. PMID: 18000310.

SACONATO M, GUEDES ZCF. Estudo da mastigação e da deglutição em crianças e adolescentes com Sequência de Möbius. *Rev Soc Bras Fonoaudiol.* V. 14, N. 2:165-71. Jan. 2009

SANTOS R.E.A., LEANDRO, C.G., DE FRANÇA, K.E.X., BARBOSA, D.A.M., ARAGÃO, R.D.S., PINHEIRO, I.L., FERRAZ-PEREIRA, K.N. Mastication in overweight and obese children: A comparative cross-sectional study. *J Pediatr (Rio J).* 2023 Mar-Apr;99(2):154-160. doi: 10.1016/j.jped.2022.07.008.

SANTOS, R.E.A., DA SILVA, H.J., DA SILVA, M.G., BARBOSA, D.A.M., SILVA, C.M.M., AZEVÊDO, N.C., PINHEIRO, I.L., LOPES, P.E.S., ARAGÃO, R.S., FERRAZ-PEREIRA, K.N. Food consumption and masticatory performance of normal weight, overweight and obese children aged 7 to 12 years old. *Physiology & Behavior.* Volume 264, 15 May 2023, <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114141>

SEGALA F, BOLZAN GP, NASCIMENTO MD, GONÇALVES DDS, MELCHIOR A, MORAES MVM, WEINMANN ARM. Influence of taste stimulation on sucking pressure in newborn infants at term. *Codas.* 2022 Jan 12;34(3):e20210002. doi: 10.1590/2317-1782/20212021002.

SILVA AS, CARMINATTI M, LAVRA-PINTO B, RENATA FRANZON, ARAÚJO FB, GOMES E. Perfil mastigatório em crianças de três a cinco anos de idade. *Rev. CEFAC.* 2016 Maio-Jun; 18(3):568-580

- SILVA T.M.; OLIVEIRA, F.M.; RODRIGUES, K.C.P; NOBRE, L.R.; BRITO, M.L. Uso de modelos animais na indução da obesidade e alterações fisiológicas Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 6, n. 9, p.66278-66286, sep. 2020.
- SIMONIAN, M.H; BETGOVARGEZ, E.; KNUDSON, V. Characterization of proteins in the human serum proteome. *J Biomol Tech.* 16(4):306-10,2005.
- SOARES, M. E. et al. Factors associated with masticatory performance among preschool children. *Clinical Oral Investigations*, v. 21, n. 1, p. 159–166, 2017b.
- SOARES, M. E. et al. Influence of masticatory function, dental caries and socioeconomic status on the body mass index of preschool children. *Archives of Oral Biology*, v. 81, p. 69–73, 2017a.
- SOROKO M, ZABORSKI D. Investigation of the effects of probiotic, *Bacillus subtilis* on stress reactions in laying hens using infrared thermography. (2020) *PLOS ONE* 15(6): e0234117. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0234117>
- SPATARU, C.; SPATARU, M.; VULPE, V.; LAZAR, M. The peculiarities of the masticator muscles in rodents. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.65, n.3, p.749-756, 2013.
- TADA, A.; MIURA, H. Association of mastication and factors affecting masticatory function with obesity in adults: A systematic review. *BMC Oral Health*, v. 18, n. 1, 2018.
- TANIGUTE CC. Desenvolvimento das funções estomatognáticas. In: *Fundamentos em fonoaudiologia: aspectos clínicos da motricidade oral*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara; 2005. p.1-9.
- TAGLIARO ML, CALVI C DE L, CHIAPPETTA AL DE ML. A fase de incisão no processo da mastigação: enfoque clínico. *Rev. CEFAC.* 2004;6(1):24-8.
- TEFF, K. L.; MATTES, R. D.; ENGELMAN, K. Cephalic phase insulin release in normal weight males: Verification and reliability. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*. v. 261, n. 4, oct.1991. doi: 10.1152/ajpendo.1991.261.4.E430.
- TIELAND, M. TROUWBORST, I. CLARK, B.C. Skeletal muscle performance and ageing. *Journal of cachexia sarcopenia and muscle* Volume9, Issue1. February 2018. Pages 3-19. <https://doi.org/10.1002/jcsm.12238>
- TSUJIMOTO, G., SUNADA, K., NAKAMURA, T. Effect of cervical sympathetic ganglionectomy on facial nerve reconstruction using polyglycolic acid-collagen tubes, *Brain Research* (2017), doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2017.05.028>
- WESTNEAT MW, HALL WG. Ontogeny of feeding motor patterns in infant rats: an electromyographic analysis of suckling and chewing. *Behav Neurosci.* V. 106, n. 3. 1, pp. 539–554, jun. 1992. doi: 10.1037//0735-7044.106.3.539.
- WELLS, J. C. K. Adaptive variability in the duration of critical windows of plasticity: Implications for the programming of obesity. *Evolution, Medicine and Public Health*, v. 2014, n. 1, p. 109–121, 2014.
- WELLS, J. C. K. Developmental plasticity as adaptation: Adjusting to the external environment under the imprint of maternal capital. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 374, n. 1770, 2019

WIDMER, C.G., ENGLISH, A.W. , MORRIS-WIMAN, J. Developmental and functional considerations of masseter muscle partitioning. *Archives of Oral Biology*. Volume 52, Issue 4. 2007. Pages 305-308. ISSN 0003-9969. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2006.09.015>.

WILLIAMS, K. L.; HANDLEY, R.S.; WILLIAMS, F.L. Infrared thermometry in the diagnosis of breast disease. *Lancet*, London, v.2, n.7217, p.1378-1381, 1961.

WITKOWSKA-PIŁASZEWICZ, O.; MASKO, M.; DOMINÓ, M.; WINNICKA, A. A termografia infravermelha se correlaciona com a concentração de lactato no sangue durante o treinamento de corrida em cavalos. *Animais* 2020 , 10 , 2072. <https://doi.org/10.3390/ani10112072>

WHITE, A. K. et al. A comparison of chewing rate between overweight and normal BMI individuals. *Physiology and Behavior*, v.154, n. 1, 8-13. jun. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva: WHO; 2000

YAMANE, A.; et al., Induced expression of MyoD, myogenin and desmin during myoblast differentiation in embryonic mouse tongue development. *Archives of Oral Biology*. V. 43, n. 5. 407±416, may. 1998.

YAMANE, A.; et al. Expression of myogenic regulatory factors during the development of mouse tongue striated muscle. *Archives of Oral Biology*. V.45, n.1, 71±78, jan. 2000. doi: 10.1016/s0003-9969(99)00105-3.

ANEXO A - APROVAÇÃO DO PROJETO



Universidade Federal de Pernambuco
 Centro de Biociências
 Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 Fones: 2126-8840
 www.ufpe.br

Recife, 22 de dezembro de 2021

Ofício nº 95/21

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Prof. Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff**

Centro Acadêmico de Vitória - CAV

processo nº0096/2021

Certificamos que a proposta intitulada **"Efeitos da terapia a laser de baixa potência sobre a musculatura mastigatória em modelo experimental de obesidade"**, de registrado com o nº 0096/2021 sob a responsabilidade da **Prof: Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff** Que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 21/12/2021

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	21/12/2021 a 01/06/2022
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogênico
Nº de animais	70 animais
Peso/idade	90-120 d / 220-250g
Sexo	Macho (60) Femea (10)
Origem: Biotério de Criação	Biotério / Colônia de criação do Depto de Nutrição UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do departamento de Nutrição - UFPE

Atenciosamente

Prof. Sebastião R. F. Silva



Presidente CEUA/UFPE
 SIAPE 2343691

ANEXO B - ARTIGOS PUBLICADOS



Physiology & Behavior

Volume 264, 15 May 2023, 114141



Food consumption and masticatory performance of normal weight, overweight and obese children aged 7 to 12 years old

Renata Emmanuele Assunção Santos^a, Hilton Justino da Silva^b, Maria Giselda da Silva^c,
Danielly Alves Mendes Barbosa^c, Cynthya Myllena Martins Silva^c, Nilian Cerqueira Azevêdo^b,
Isabeli Lins Pinheiro^c, Pablo Erick da Silva Lopes^d, Raquel da Silva Aragão^{a c},
Kelli Nogueira Ferraz Pereira^{b c}  

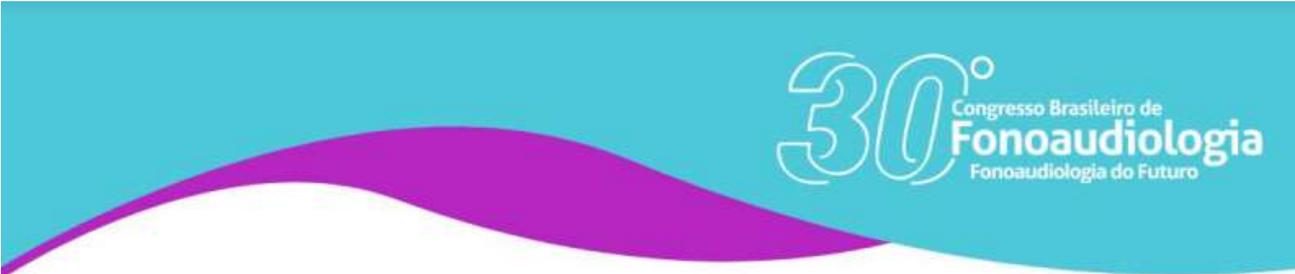
Show more 

 Add to Mendeley  Share  Cite

<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2023.114141> 

[Get rights and content](#) 

ANEXO C - TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS E PARTICIPAÇÕES ACADÊMICAS



30º Congresso Brasileiro de Fonoaudiologia
Fonoaudiologia do Futuro

CERTIFICADO

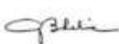
Conferido pela Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia

Pela apresentação do trabalho intitulado **MASTIGAÇÃO E HÁBITOS ALIMENTARES DE MENINOS EM IDADE ESCOLAR, COM SOBREPESO OU OBESIDADE**, do(s) autor(es) **CELIANE DE FARIAS, DANIELLY ALVES MENDES BARBOSA, NILIAN CERQUEIRA AZEVÉDO, RENATA EMMANUELE ASSUNÇÃO SANTOS, EWERTHON HENRIQUE DA CONCEIÇÃO, MARIA CAROLINE BARBOSA DO MONTE SILVA, CYNTHYA MYLLENA MARTINS SILVA, ISABELI LINS PINHEIRO, KELLI NOGUEIRA FERRAZ PEREIRA ALTHOFF**, na modalidade pôster, na área Motricidade Orofacial (MO), realizado durante o **30º CONGRESSO BRASILEIRO DE FONOAUDIOLOGIA**, de 19 a 22 de outubro de 2022, no Centro de Convenções Poeta Ronaldo Cunha Lima, em João Pessoa – PB.

João Pessoa, 22 de outubro de 2022.


Dr. Leonardo Lopes
Presidente da SBFa


Dra. Ingrid Gielow
Vice-Presidente da SBFa


Dra. Giédre Barretin-Felix
Diretora Científica SBFa


Dr. Giorvan Anderson Alves
Diretor Científico SBFa

REALIZAÇÃO


SBFa
Sociedade Brasileira de Fonoaudiólogos



30º Congresso Brasileiro de Fonoaudiologia
Fonoaudiologia do Futuro

CERTIFICADO

Conferido pela Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia

Pela apresentação do trabalho intitulado **IMPACTO DAS ALTERAÇÕES DO OLFATO E PALADAR, A CURTO E LONGO PRAZO, NOS HÁBITOS ALIMENTARES DE PACIENTES COM COVID-19**, do(s) autor(es) **CELIANE DE FARIAS, DANIELLY ALVES MENDES BARBOSA, NILIAN CERQUEIRA AZEVÉDO, RENATA EMMANUELE ASSUNÇÃO SANTOS, MARIA CAROLINE BARBOSA DO MONTE SILVA, EWERTHON HENRIQUE DA CONCEIÇÃO, CYNTHYA MYLLENA MARTINS SILVA, ISABELI LINS PINHEIRO, ANA LISA DO VALE GOMES, KELLI NOGUEIRA FERRAZ PEREIRA ALTHOFF**, na modalidade pôster, na área Motricidade Orofacial (MO), realizado durante o **30º CONGRESSO BRASILEIRO DE FONOAUDIOLOGIA**, de 19 a 22 de outubro de 2022, no Centro de Convenções Poeta Ronaldo Cunha Lima, em João Pessoa – PB.

João Pessoa, 22 de outubro de 2022.



XXXVI REUNIÃO ANUAL DA FESBE
LVII CONGRESSO ANUAL DA SBFIS
I CONGRESSO DOHaD BRASIL

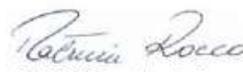
05 A 09 DE AGOSTO DE 2022

Tema Central: "Ciência e Tecnologia,
Caminhos para a Independência"

CERTIFICADO

Certificamos que o Trabalho Científico intitulado: Do children aged 7 to 12 years with obesity consume more ultra-processed foods and have worse masticatory performance?, dos autores: Cynthia Myllena Martins Silva, Isabeli Lins Pinheiro, Renata Emmanuele Assunção Santos, Maria Caroline Barbosa do Monte Silva, Danielly Alves Mendes Barbosa, Nilian Cerqueira Azevêdo, Celiane de Farias, Priscylla Raissa Gomes Pimentel, Pablo Erick da Silva Lopes, Hilton Justino da Silva, Raquel da Silva Aragão, Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff foi apresentado no XXXVI Reunião Anual da FESBE 2022, realizado na plataforma Virtuali Eventos no período de 05/08/2022 a 09/08/2022


Eduardo Colombari
Presidente da FESBE


Patricia Rieken Macedo Rocco
Presidente da SBFIS


Patricia Aline Boer
Presidente do DOHaD Brasil



XXXVI REUNIÃO ANUAL DA FESBE
LVII CONGRESSO ANUAL DA SBFIS
I CONGRESSO DOHaD BRASIL

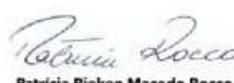
05 A 09 DE AGOSTO DE 2022

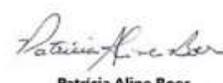
Tema Central: "Ciência e Tecnologia,
Caminhos para a Independência"

CERTIFICADO

Certificamos que o Trabalho Científico intitulado: Effects of obesity induced by neonatal overnutrition on masticatory muscles and food consumption in rats, dos autores: Cynthia Myllena Martins Silva, Isabeli Lins Pinheiro, Renata Emmanuele Assunção Santos, Maria Caroline Barbosa do Monte Silva, Danielly Alves Mendes Barbosa, Nilian Cerqueira Azevêdo, Celiane de Farias, Priscylla Raissa Gomes Pimentel, Raquel da Silva Aragão, Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff foi apresentado no XXXVI Reunião Anual da FESBE 2022, realizado na plataforma Virtuali Eventos no período de 05/08/2022 a 09/08/2022


Eduardo Colombari
Presidente da FESBE


Patricia Rieken Macedo Rocco
Presidente da SBFIS


Patricia Aline Boer
Presidente do DOHaD Brasil





Certificamos que o trabalho intitulado como “**DESEMPENHO MASTIGATORIO EM CRIANÇAS DE 7 A 12 ANOS DE IDADE COM OBESIDADE: UM ESTUDO COMPARATIVO**” de autoria de **Nilian Cerqueira Azevêdo,, Renata Emmanuele Assunção Santos, Maria Caroline Barbosa do Monte Silva, Cynthya Myllena Martins Silva,, Danielly Alves Mendes Barbosa, Isabeli Lins Pinheiro, Raquel da Silva Aragão, Hilton Justino da Silva e Kelli Nogueira Ferraz Pereira** foi apresentado como pôster virtual no 14º Encontro Brasileiro de Motricidade Orofacial ocorrido nos dias 02 a 04 de junho de 2022.



Hilton Justino da Silva
HILTON JUSTINO
Presidente da ABRAMO

Renata Cavalcanti
RENATA CAVALCANTI
Representante da Comissão Científica

Patrocínio

CEFAC
Saúde e Educação

CERTIFICADO

CERTIFICAMOS QUE

NILIAN CERQUEIRA AZEVEDO

PARTICIPOU DO II ENCONTRO EM SAÚDE DA COMUNICAÇÃO HUMANA DA UFPE - DIÁLOGOS NA ATENÇÃO BÁSICA À SAÚDE, REALIZADO NO DIA 25 DE MARÇO DE 2022, PROMOVIDO PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA COMUNICAÇÃO HUMANA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (PPGSCH-UFPE), NA QUALIDADE DE COMISSÃO ORGANIZADORA.

CARGA HORÁRIA: 08H **RECIFE, 25 DE MARÇO DE 2022**

ADRIANA DE OLIVEIRA CAMARGO GOMES
COORDENADORA DO PPGSCH-UFPE

HILTON JUSTINO DA SILVA
COORDENADOR GERAL DO II ESCH

REALIZAÇÃO:



DESEMPENHO MASTIGATORIO EM CRIANÇAS DE 7 A 12 ANOS DE IDADE COM OBESIDADE: UM ESTUDO COMPARATIVO

14º Encontro Brasileiro de Motricidade Orofacial, 14ª edição, de 02/06/2022 a 04/06/2022
ISBN dos Anais: 978-65-81152-66-6

AZEVÉDO; Nilian Cerqueira ¹, SANTOS; Renata Emmanuele Assunção ², SILVA; Maria Caroline Barbosa do Monte ³, SILVA; Cynthia Myllena Martins ⁴, BARBOSA; Danielly Alves Mendes ⁵, PINHEIRO; Isabeli Lins ⁶, ARAGÃO; Raquel da Silva ⁷, SILVA; Hilton Justino da ⁸, ALTHOFF; Kelli Nogueira Ferraz Pereira Althoff ⁹

RESUMO

INTRODUÇÃO: Estudos sugerem um modelo específico mastigatório na população com obesidade caracterizado por menos mastigações por grama/ mordida, maior ritmo de ingestão e maior tamanho de mordida.

OBJETIVO: Avaliar o desempenho mastigatório em crianças de 7 a 12 anos de idade com sobrepeso e obesidade quando comparado às crianças com peso adequado. **MÉTODOS:** Estudo transversal, realizado com 92 crianças de 7 a 12 anos de idade, de ambos os sexos, estudantes de escola pública do município de Vitória de Santo Antão, localizada na zona da Mata Sul do estado de Pernambuco, Brasil. O estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética, com o número: 3.654.541. Inicialmente foram analisados os parâmetros antropométricos de peso, estatura e índice de massa corporal (IMC). As crianças foram divididas em três grupos: peso adequado (n=48), sobrepeso (n=26) e obesidade (n=18), de acordo com os dados de referência de IMC para idade e sexo. Posteriormente foi realizada a análise do desempenho mastigatório, utilizando um biscoito recheado da marca Bono® (Nestlé Brasil Ltda., Marília, SP, Brasil). As avaliações foram registradas usando uma câmera e as respectivas análises foram realizadas por dois examinadores devidamente habilitados e treinados. A mastigação foi registrada com a criança sentada em uma cadeira com um encosto, os pés posicionados no chão, a uma distância padronizada da câmera. As crianças foram orientadas a mastigar o biscoito recheado de forma habitual (mastigação livre). Foram analisados os seguintes parâmetros: Número de sequências e ciclos mastigatórios; Tempo de mastigação; Frequência mastigatória; Tempo de refeição (s); Taxa de mastigação (ciclos/min). **RESULTADOS:** Ressalta-se o elevado percentual de crianças com excesso de peso (47,9%), assim como a alta frequência de crianças com obesidade instalada (19,6%). Ao avaliar o desempenho mastigatório de acordo com o estado nutricional, foi possível encontrar que crianças com obesidade realizam menos sequências mastigatórias (p = 0,007) e apresentam menor tempo de refeição (p = 0,026) em comparação às crianças com peso adequado. **CONCLUSÃO:** Crianças de 7 a 12 anos de idade com obesidade apresentam pior desempenho mastigatório em comparação às crianças com peso adequado, uma vez que realizam menos sequências mastigatórias e comem mais rapidamente.

PALAVRAS-CHAVE: Mastigação, obesidade infantil, obesidade



CERTIFICADO

Conferido pela Sociedade Brasileira de Fonoaudiologia a
NILIAN CERQUEIRA AZEVEDO

pela apresentação do trabalho intitulado A INFLUÊNCIA DO ALEITAMENTO MATERNO E O SUCESSO EXISTENTE NO PERÍODO DE DESENVOLVIMENTO DO BEBÊ, do(s) autor(es) NILIAN CERQUEIRA AZEVEDO, MARISA SIQUEIRA BRANDÃO CANUTO, MATEUS SAULO DANTAS CORREIA E SÁ, na modalidade E-pôster, na área Motricidade Orofacial (MO), apresentado no **XXIX CONGRESSO BRASILEIRO e XI CONGRESSO INTERNACIONAL DE FONOAUDIOLOGIA**, no formato on-line, no período de 13 a 16 de outubro de 2021.

São Paulo, 16 de outubro de 2021.

Dr. Leonardo Lopes
Presidente da SBFa

Dra. Ingrid Gielow
Vice-Presidente da SBFa

Dra. Giédre Berretin-Félix
Diretora Científica SBFa

Dr. Giorvan Anderson Alves
Diretor Científico SBFa

REALIZAÇÃO



SBFa
Sociedade Brasileira
de Fonoaudiologia





CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico intitulado **CARACTERIZAÇÃO CLÍNICA ORAL E ESTADO NUTRICIONAL DE ESCOLARES DE UM MUNICÍPIO DA ZONA MATA DO ESTADO DE PE**, ID 263775, de autoria de: **Maria Júlia Farias Tenório, Gabriela da Rocha Noblat, Lisias Alexandre Santiago da Silva, Maria Eduarda Gonçalves de Melo Silva, Nilian Cerqueira Azevêdo, Maria Caroline Barbosa do Monte Silva, Renata Emmanuele Assunção Santos, Kelli Nogueira Ferraz Pereira**, foi apresentado na modalidade banner no **X Encontro Pernambucano de Odontologia – X EPO**, promovido pela Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE – Campus Santo Amaro, realizado na cidade do Recife, entre os dias 04 e 05 de novembro de 2022.

Amanda Calvão Souza
Presidente do Conselho
Organizador do X EPO

Dr. Emanuel Dias de Oliveira e Silva
Diretor da FOP/UPE

Dra. Ana Paula Veras Sobral
Coordenadora do evento e
cultura da FOP/UPE

REA
LIZA
ÇÃO



@epocongresso
epo.upe.br



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico intitulado **MULTIDISCIPLINARIDADE NA IDENTIFICAÇÃO E TRATAMENTO DAS ANQUILOGLOSSIAS: RELATO DE CASO**, ID 263520, de autoria de: **Gabriela da Rocha Noblat, Nilian Cerqueira Azevêdo, Maria Julia Farias Tenório, Rafaela Cavalcanti Amaral, Celiane de Farias, Maria Eduarda Gonçalves Melo da Silva, Renata Emmanuele Assunção Santos, Kelli Nogueira Ferraz Pereira**, foi apresentado na modalidade banner no **X Encontro Pernambucano de Odontologia – X EPO**, promovido pela Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE – Campus Santo Amaro, realizado na cidade do Recife, entre os dias 04 e 05 de novembro de 2022.

Amanda Calvão Souza
Presidente do Conselho
Organizador do X EPO

Dr. Emanuel Dias de Oliveira e Silva
Diretor da FOP/UPE

Dra. Ana Paula Veras Sobral
Coordenadora de extensão e
cultura da FOP/UPE

REA
LIZA
ÇÃO



@epocongresso
epo.upe.br



CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho científico intitulado **ATUAÇÃO DA ODONTOLOGIA E DA FONOAUDIOLOGIA NAS AVALIAÇÕES DE ANQUILOGLOSSIA**, ID 263355, de autoria de: **Maria Júlia Farias Tenório, Gabriela da Rocha Noblat, Lisias Alexandre Santiago da Silva, Maria Eduarda Gonçalves de Melo Silva, Nilian Cerqueira Azevêdo, Cynthia Myllena Martins Silva, Renata Emmanuele Assunção Santos, Kelli Nogueira Ferraz Pereira**, foi apresentado na modalidade banner no **X Encontro Pernambucano de Odontologia – X EPO**, promovido pela Faculdade de Odontologia de Pernambuco – FOP/UPE – Campus Santo Amaro, realizado na cidade do Recife, entre os dias 04 e 05 de novembro de 2022.

Amanda Calvão Souza
Presidente do Conselho
Organizador do X EPO

Dr. Emanuel Dias de Oliveira e Silva
Diretor da FOP/UPE

Dra. Ana Paula Veras Sobral
Coordenadora de extensão e
cultura da FOP/UPE

REA
LIZA
ÇÃO



@epocongresso
epo.upe.br





UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA - CAV
CURSO DE BACHARELADO EM NUTRIÇÃO

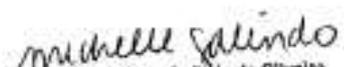
DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins de comprovação, que no dia **10 de novembro de 2022**, foi defendido e aprovado o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado "**RELAÇÃO ENTRE ALTERAÇÕES NA MASTIGAÇÃO E O DESENVOLVIMENTO DO SOBREPESO E OBESIDADE: UMA REVISÃO NARRATIVA**" de **MARIANA NATÁLIA DA SILVA SENA**, concluinte do Curso de Graduação em Nutrição, deste Centro, desta Universidade.

A estudante foi orientado(a) pelo(a) **Profa. RENATA EMMANUELE ASSUNÇÃO SANTOS** e coorientado(a) pelo(a) **Profa. KELLI NOGUEIRA FERRAZ PEREIRA ALTHOFF** deste Centro, no período de **setembro de 2021 a novembro de 2022**.

Participaram como membros titulares da comissão examinadora: **Profa. ISABELI LINS PINHEIRO (Presidente)**, **NILIAN CERQUEIRA AZEVÊDO** e **MARIA CAROLINE BARBOSA DO MONTE SILVA**.

Vitória de Santo Antão, 10 de novembro de 2022.


 Michelle Galvão de Oliveira
Coordenadora do Curso de Nutrição
CAV/UFPE
SMAPE 1738103